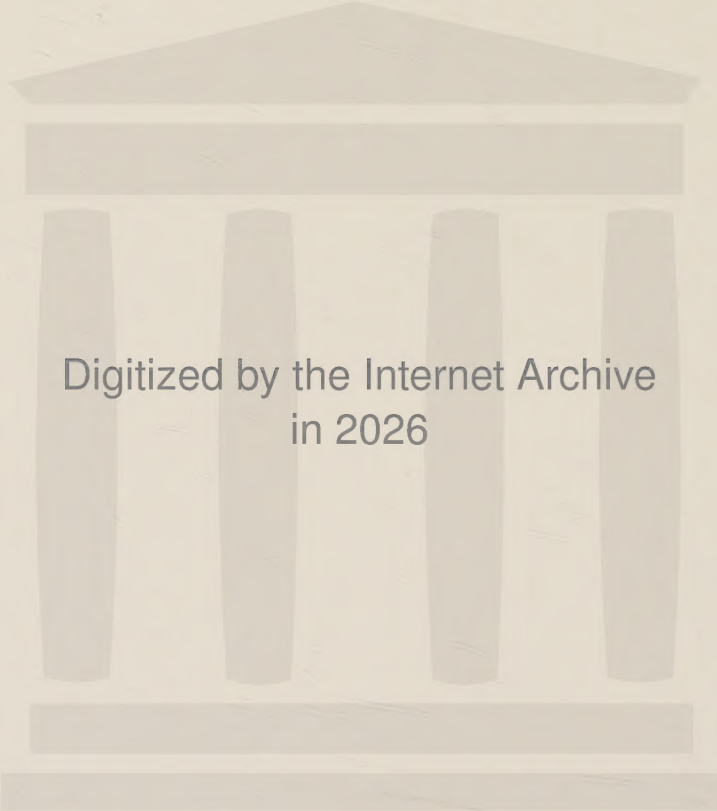


**BEEINFLUSSUNG
DER HUMORALEN IMMUNREAKTIONEN
DURCH INFLUEX^R UND ECHINACEA
ANGUSTIFOLIA EXTRAKT**

Michael Würdinger



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554808_0041

AUS DEM INSTITUT FÜR
PHYSIOLOGIE, PHYSIOLOGISCHE CHEMIE UND ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGIE
DER TIERÄRZTLICHEN FAKULTÄT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
GESCHÄFTSFÜHRENDER VORSTAND: PROF.DR.H.ZUCKER

Angefertigt unter der Leitung von
PROF. DR. U. LÖSCH

BEEINFLUSSUNG DER HUMORALEN IMMUNREAKTIONEN
DURCH INFLUENZ^R UND ECHINACEA ANGUSTIFOLIA EXTRAKT

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

MICHAEL WÜRDINGER

aus

Bad Harzburg

München 1986

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. U. Lösch

Korreferent: Prof. Dr. J. Kösters

Tag der Promotion: 28. Februar 1986

Meiner Familie
und
meinen Freunden

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. <u>Einleitung</u>	1
2. <u>Literatur</u>	2
2.1 Besonderheiten des aviären Immunsystems	2
2.2 Charakteristika der erblichen Dysgammaglobulinämie der UM-B19-Hühner	3
2.3 Eingesetzte Stoffe und Stoffmischungen	4
2.4 Wirkung	7
2.5 Problematik Monopräparate/Kombinationspräparate	11
2.6 Problemstellung	12
3. <u>Material und Methoden</u>	13
3.1 Tiermaterial	13
3.2 Immunstimulation	13
3.3 Applikation	13
3.4 Immunisierung	14
3.5 Blutentnahme	14
3.6 Serumgewinnung	14
3.7 Antiseren	14
3.8 Isolierung der Standardsubstanzen	14
3.9 Rocket-Immunelektrophorese	15
3.10 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (Elisa)	16
3.11 Bursektomie	19
3.12 Statistische Methoden	19
3.13 Versuchsablauf	19
4. <u>Ergebnisse</u>	20
4.1 Verabreichung der Präparate in alkoholischer Lösung an immunologisch intakte HNL-Hühner	20
4.1.1 Serumimmunglobulinverlauf	20
4.1.1.1 Serum-IgG-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von InflueX, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG	20
4.1.1.2 Serum-IgG-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von InflueX, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG	22
4.1.1.3 Serum-IgM-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von InflueX, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG	22

4.1.1.4	Serum-IgM-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influecx, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG	22
4.1.1.5	Serum-IgA-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influecx, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG	22
4.1.1.6	Serum-IgA-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influecx, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG	27
4.1.2	Verlauf der Anti-HSA-Titer	29
4.1.2.1	Anti-HSA-Titer der IgG-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influecx, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG	29
4.1.2.2	Anti-HSA-Titer der IgG-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influecx, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG	29
4.1.2.3	Anti-HSA-Titer der IgM-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influecx, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG	29
4.1.2.4	Anti-HSA-Titer der IgM-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influecx, Echinaceae bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG	29
4.1.2.5	Anti-HSA-Titer der IgA-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influecx, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG	34
4.1.2.6	Anti-HSA-Titer der IgA-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influecx, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG	34
4.2	Verabreichung der Präparate in wässriger Lösung an immunologisch intakte HNL-Hühner	34
4.2.1	Serumimmunglobulinverlauf	34
4.2.1.1	Serum-IgG-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influecx bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG	34
4.2.1.2	Serum-IgM-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influecx bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG	34

4.2.1.3	Serum-IgA-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von InflueX bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG	39
4.2.2	Verlauf der Anti-HSA-Titer	39
4.2.2.1	Anti-HSA-Titer der IgG-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von InflueX bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG	39
4.2.2.2	Anti-HSA-Titer der IgM-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von InflueX bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG	39
4.2.2.3	Anti-HSA-Titer der IgA-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von InflueX bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG	39
4.3	Verabreichung der Präparate an dysgamma-globulinämische UM-B19-Hühner	44
4.3.1	Serummimmunglobulinverlauf	44
4.3.1.1	Serum-IgG-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von InflueX, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG	44
4.3.1.2	Serum-IgG-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von InflueX, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG	44
4.3.1.3	Serum-IgM bzw. IgA-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von InflueX, Echinacea, Alkohol bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG bzw. 0,1 ml/kg KG	47
4.3.2	Verlauf der Anti-HSA-Titer	47
4.3.2.1	Anti-HSA-Titer der IgG-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von InflueX, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG	47
4.3.2.2	Anti-HSA-Titer der IgG-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von InflueX, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG	49
4.3.2.3	Anti-HSA-Titer der IgM-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von InflueX, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG	49

4.3.2.4	Anti-HSA-Titer der IgM-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influtex, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG	49
4.3.2.5	Anti-HSA-Titer der IgA-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influtex, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG	53
4.3.2.6	Anti-HSA-Titer der IgA-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influtex, Echinacea bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG	53
4.4	Verabreichung der Präparate nach vorangegangener Immunisierung mit HSA an chirurgisch bursektomierte Hühner	56
5.	<u>Diskussion</u>	57
5.1	Bestimmungsmethoden	57
5.2	Herkunft und Aufarbeitung der immunstimulierenden Substanzen	58
5.3	Verabreichungsform der pflanzlichen Präparate	58
5.4	Dosierung der immunstimulierenden Präparate	59
5.5	Besprechung der Ergebnisse	59
5.6	Influtex bzw. Echinacea-Urtinktur in ihrer Wirkung als Immunstimulanzen	61
6.	<u>Zusammenfassung</u>	64
7.	<u>Summary</u>	65
8.	<u>Tabellarischer Anhang</u>	66-89
9.	<u>Literaturverzeichnis</u>	I-XI

1. EINLEITUNG

Versuche, die Abwehrlage gefährdeter Individuen mit Hilfe pflanzlicher Substanzen zu stabilisieren, reichen bis in die vorwissenschaftliche Zeit zurück (siehe bei Lloyd, 1923, Harnischfeger und Stolze, 1980). Heute wird eine Vielzahl von Präparaten angeboten (siehe Rote Liste 1985, unter Umstimmungsmittel/Immunstimulanzien bzw. Homöopathika), denen immunstimulierende, - modulierende bzw. "adaptierende" Effekte oder Wirkungen zugesprochen werden.

Die eindeutige Prüfung immunstimulierender Substanzen kann bezüglich der Phagozytose wie auch der zellvermittelten und humoralen Immunreaktionen an immunologisch intakten oder immundefizienten Probanden durchgeführt werden.

In der vorliegenden Arbeit wird der Effekt pflanzlicher Einzel- und Komplexpräparate und deren Lösungsmittel auf das humorale Immunsystem des gesunden und - zum Teil vergleichend - des immundefizienten Haushuhnes untersucht. Als Kriterium für die jeweilige Substanzwirkung wurden die Konzentrationen der Serumimmunglobuline bzw. die Titer spezifischer Antikörper herangezogen.

In der folgenden Literaturübersicht werden

1. die Besonderheiten des aviären Immunsystems kurz umrissen,
2. die Charakteristika der erblichen Dysgammaglobulinämie der UM-B19-Hühner aufgeführt,
3. die eingesetzten Stoffe bzw. Stoffmischungen und ihre Lösungsmittel beschrieben,
4. die in der Literatur beschriebenen Wirkungen der unter 3. aufgeführten Stoffe zitiert.

* * *

2. LITERATUR

2.1 Besonderheiten des aviären Immunsystems.

Neben dem Thymus findet sich bei den Vögeln als zusätzliches "zentrales" Lymphoidorgan die Bursa Fabricii. Der erste Hinweis auf eine immunologische Funktion dieses 1621 von Fabricius (Jankovic, 1968) beschriebenen Organs stammt von Glick et al. (1956). Insbesondere die vielfältigen Möglichkeiten der Bursektomie (chirurgisch: Müller et al., 1960; hormonell: Meyer et al., 1959; Glick und Sadler, 1961; chemisch: Linna et al., 1970) und deren Kombination (z.B. Fiedler et al., 1977) erlaubten mittlerweile die weitgehende Aufklärung der Bursafunktion. Die Bursa Fabricii stellt das sogenannte "micro-environment" für den "switch" von IgM zu IgG produzierenden Lymphozyten dar. Ausserdem garantiert dieses lymphatische Organ die Ausbildung der Diversität der Antikörperspezifitäten (Glick et al., 1956, Toivanen et al., 1977).

Durch spezifische Marker serologisch unterscheidbarer B- und T-Zellen sowie deren Produkte (Immunglobuline bzw. Mediatoren wie Interleukine) wird prinzipiell Vergleichbares für beide Systeme (Vogel und Säuger) beschrieben.

Im Gegensatz zu den Säugetieren konnten beim Haushuhn nur die Immunglobuline IgG, IgM und IgA isoliert werden (Orlans et al., 1972; Benedict, 1967; Leslie and Clem, 1969; Lebacqz-Verheyden et al., 1972).

Die Immunglobuline des Haushuhns scheinen dabei denen der Säuger äquivalent zu sein, differieren jedoch im Molekulargewicht (Bienenstock et al., 1973; Leslie and Martin, 1973; Kobayashi and Hirai, 1980).

Leslie and Clem (1969) schlugen deshalb für IgG die Bezeichnung IgY vor. Das Molekulargewicht des humanen IgG beträgt ca. 150.000, das des aviären IgG etwa 170.000 Dalton (Leslie and Clem, 1969). Die Sedimentationskonstante wird beim Huhn mit 7,1 S angegeben (Leslie and Clem, 1969), beim Menschen mit 7 S (Roitt, 1977).

Aufgrund der fehlenden Kreuzreaktion zwischen IgA aus Hühnergalle und dem IgA anderer Spezies traten Hädge und Ambrosius (1983) für die Bezeichnung IgB statt IgA ein.

Bevor nicht durch Sequenzanalysen bewiesen wird, ob tatsächlich Unterschiede zwischen den Säuger- und Hühnerimmunglobulinen bestehen, werden wir weiterhin die meist gebäuchlichen Bezeichnungen IgG, IgM und IgA verwenden (Schraner and Lösch, 1986).

Im Hühnerserum liegt IgA sowohl in monomerer als auch in dimerer Form vor (Dorn, 1984; Schraner and Lösch, 1985). Monomeres IgA besitzt ein Molekulargewicht von 170.000, dimeres IgA eines von 340.000 und sekretorisches IgA eines von 390.000 Dalton.

Bei IgM kommen die penta - wie auch die monomere Form vor. Pentameres IgM besitzt eine Sedimentationskonstante von 17 S mit einem Molekulargewicht von 890.000 Dalton (Leslie and Clem, 1969). Fünf IgM-Monomere sind sternförmig mittels Disulfidbrücken aneinandergelagert, wobei ein kleines Cystein-reiches Polypeptid, die sogenannte J-Kette, zwei der Untereinheiten bindet. Monomeres IgM (7 S) hat ein Molekulargewicht von 175.000 Dalton (Leslie and Martin, 1973).

Aviäres IgG mit einem Molekulargewicht von 170.000 Dalton stellt sich wie beim Säuger nur als monomere Form dar. Veränderungen von Struktur und Aktivität der Hühnerimmunglobuline nach 2-Mercaptoäthanolbehandlung des Serums wurden von Uebel (1984) beschrieben. Während im Humanserum IgM-Antikörper mercaptoäthanol-sensitiv und IgG-Antikörper mercaptoäthanol-resistent sind (Ishizaka et al., 1965), bleiben nach Inkubation des Hühnerserums mit 2-Mercaptoäthanol keine strukturell intakten Immunglobuline übrig (Uebel, 1984). Trotzdem ist eine immunologische Restaktivität (= Antikörperbindungsfähigkeit) vorhanden. Alle Immunglobuline werden in Untereinheiten und freie H- und L-Ketten sowie einige weitere Bruchstücke zerlegt.

Das Vorkommen eines dem Säuger-IgE-ähnlichen Antikörpers beim Vogel ist sehr umstritten (Benedict and Yamaga, 1976). Es wird jedoch vermutet, dass ein solches IgE vorhanden sein könnte (Burns and Maxwell, 1981). Ein zum Säuger homologes IgD wurde von Chen et al. (1982) beschrieben.

2.2 Charakteristika der erblichen Dysgammaglobulinämie der UM-B19-Hühner.

Die erstmals 1967 beschriebene erbliche Dysgammaglobulinämie des Haushuhns (Brüggemann et al., 1967) kann folgendermassen charakterisiert werden:

1. Hochgradig bis totaler Serum-IgG-Mangel bei erhöhten IgM- und IgA-Konzentrationen (Lösch et al., 1981).
2. Hochgradig bis totaler IgG-Antikörpermangel. (Brüggemann et al., 1969; Oberdorfer und Lösch, 1970; Brüggemann et al., 1971; Lösch et al., 1972; Lösch und Hoffmann-Fezer, 1973; Fiedler et al., 1980).
3. Die Serum-IgG-Konzentrationen und IgG-Antikörpertiter können durch Lipopolysaccharid (LPS) vorübergehend - durch Levamisol dramatisch - erhöht werden (Kühlmann et al., 1985).

4. Zellvermittelte Immunreaktionen (Transplantatabstossung, Graft versus host-Reaktion, Allergische Reaktion vom verzögerten Typ) sind voll bzw. überschüssig vorhanden (Schäfer, 1972; Fiedler et al., 1981).
5. Das Maximum der Stimulationsrate von Lymphozyten dysgammaglobulinämischer Hühner durch das B-T-Zellmitogen PWM (= Pokeweed Mitogen) liegt bei differierenden Mitogendosierungen über der Norm. Durch das T-Zellmitogen Con A (= Concanavalin A) werden jedoch nur Stimulationswerte erreicht, die weit unter den Normwerten liegen (Prügner, 1983).
6. Auch hinsichtlich bestimmter Stoffwechselgrößen von Lymphozyten (Pteridine, Purine, Xanthindehydrogenase) zeichnen sich gegenüber der Norm signifikante Differenzen ab (Böhringer, 1985).
7. Anatomisch-histologische Untersuchungen zeigen, dass bis auf häufig festgestellte Hypoplasien der männlichen Gonaden (Lösch, 1972; Hanneschläger, 1984) keine Besonderheiten vorliegen.

Im ganzen bietet sich ein klinisches Bild, das dem der "common variable Immunodeficiency" bzw. Dysgammaglobulinämie Typ III (Hobbs, 1968) weitgehend entspricht.

Mögliche Ursachen für diesen Defekt können sowohl auf der T-Zellseite, sei es durch ein verändertes T-Helfer-T-Suppressorzellverhältnis, durch einen defekten T-Helferzellfaktor, fehlende T-Zellhilfe sowie durch einen T-Suppressorzellüberschuss, als auch auf der B-Zellseite liegen, z.B. aufgrund primärer B-Zelldefekte, einer nicht voll funktionsfähigen Bursa, durch B-Zell-Rezeptordefekte für den Empfang von T-Helferzellsignalen.

2.3 Eingesetzte Stoffe und Stoffmischungen.

1. Die für Echinacea-Urtinktur verwendete Stammpflanze ist *Echinacea angustifolia*, wobei die gesamte frische Pflanze plus Wurzel verwendet wird. Der Wurzelanteil kann auf etwa 25% geschätzt werden.

Als Extraktionsmittel diene Aethanol (96%). Der Gehalt am Hauptbestandteil Echinacosid lag bei maximal 0,025 mg/ml (Okpanyi, 1983; persönliche Mitteilung). Die Identität von Echinacosid kann mittels Dünnschichtchromatographie dargestellt werden. Das Produkt lag in einer 35%-igen (w/v) alkoholischen Lösung vor.

2. Der zusammengesetzte Pflanzenextrakt InflueX (Steigerwald) besteht in 100 ml aus:

Echinacea angustifolia (Urtinktur, wie in 1. beschrieben)		30,0 ml
Aconitum napellus	D ₄	15,0 ml
Lachesis mutus	D ₆	30,0 ml
Apis mellificia	D ₃	10,0 ml

Die einzelnen Wirkstoffe werden wie folgt beschrieben:

Echinacea

Echinacea ist eine in Nordamerika beheimatete Drogenpflanze mit über 9 Spezies (Mc Gregor, 1968). Sie besitzt starke Pfahlwurzeln und einen kegelförmigen, stacheligen Fruchtboden, der ihr den griechischen Namen gab (echinos = igel; Vonarburg, 1984). Trotz zahlreicher Varietäten finden jedoch nur die drei Arten Echinacea angustifolia, Echinacea purpurea und Echinacea pallida medizinische Verwendung, hierbei vor allem die Droge aus der Wurzel (Heeger, 1956).

In der Wurzelsubstanz wurden folgende Inhaltsstoffe identifiziert:

Inulin und inulinartige Stoffe, Glyceride, reduzierende Zucker, Harzsubstanzen, aetherische Öle, Öl-, Linol-, Palmitin- und Ascorbinsäure sowie Magnesium, Eisen, Aluminiumsulfate, Erdalkale, daneben noch Terpene wie Pinen, Myrcen und Thylion (Heyl and Staley, 1914; Heyl and Hart, 1915; Verelis, 1978). Schulte (1967) isolierte aus der Wurzel dreizehn Polyacetylenverbindungen sowie das fungizid und bakteriostatisch wirkende Dien, das nur in Echinacea angustifolia mit einem Hauptanteil von ca. 400 mg gefunden wurde. Die Arbeitsgruppe von Jacobsen (1954) fand das insektizid wirkende Echinacein, das identisch mit dem in Rutaceen (Rautengewächse wie Zitrusfrüchte) vorkommende Neoherculin ist. Weiterhin wurden das in der Wirkung dem Insektenschlupfhormon ähnliche Echinolon (Jacobsen, 1975) sowie das in der Humanmedizin wichtige onkolytisch wirkende cis-1,8-Pentadecadien (Voaden and Jacobsen, 1972) gefunden. Der von Stoll (1950) isolierte Hauptbestandteil Echinacosid ist ein aus Glucose und Rhamnose sowie aus Kaffeesäure und Brenzkatechinalkohol zusammengesetzter Polysaccharid-Komplex, der sich durch Hemmung auf Staphylococcus-aureus-Wachstum auszeichnet.

Als weitere mögliche Wirkstoffe sind neben Echinacea angustifolia noch Aconitum napellus, Lachesis mutus und Apis mellificia in homöopathischen Potenzierungen im Kombinationspräparat enthalten:

Aconitum napellus (Blauer Eisenhut)

ist in Mitteleuropa beheimatet und gehört in die Familie der Ranunculaceae (Hahnenfussgewächse). Die Droge wird aus der Knolle, *Tubera aconiti*, gewonnen (Roth-Daunders-Kormann, 1984). Die Hauptwirkstoffe sind hydrolysierbare Esteralkaloide von terpenoider Struktur, daneben Kaffee-, Chloragen-, China-, Apfelsäure. Das Hauptalkaloid ist Aconitin ($C_{34}H_{47}O_{11}N$), eines der giftigsten Alkaloide überhaupt, weiterhin Picroaconitin, Mesaconitin, Hypaconitin sowie die freien Alkamine Aconin, Napellin, Neopellin und Neolin. (Chrubasik und Chrubasik, 1983). Aconitin greift in der Peripherie an und blockiert dort die Muskelendplatten. Auf der Haut wirkt es zunächst erregend, dann lähmend auf sensible Nervenendigungen bis hin zur Anästhesie (Braun, 1979). Bei akuten Vergiftungen durch *Aconitum napellus* treten Diarrhoe, Tremor, Hypothermie, Parästhesien sowie Lähmungserscheinungen und besonders Trigeminusschmerzen auf (Chrubasik und Chrubasik, 1983).

Lachesis mutus

Die sogenannte Buschmeisterschlange ist in Südamerika beheimatet und gehört zur Familie der Crotalidae (= Lochottern). Ihre Gifte setzen Histamin frei (Feldberg and Kellaway, 1937) und bewirken in hohen Dosen einen letalen Ausgang mit intravaskulärer Gerinnung. In geringen Dosen wird die Blutkoagulation gehemmt (Arthus, 1920). Die Gifte von *Lachesis mutus* verlieren zwar bei Erhitzen unter standardisierten Bedingungen ihre Toxizität, jedoch nicht ihre Fähigkeit der Gerinnungsaktivierung (Klobusitzky and König, 1936).

Neben zahlreichen Enzymen sind Neuro- und Cardiotoxine nachweisbar, bei denen es sich um basische Polypeptide handelt. Neurotoxische Proteine zeichnen sich durch neuromuskuläre Blockaden aus, wobei die Inhibitionen wie bei Cobratoxin bzw. Bungarotoxin an der praesynaptischen Membran stattfinden und somit eine Freisetzung von Acetylcholin verhindert wird. Eine andere Möglichkeit für die Inhibition ist die postsynaptischen Membran (β -Bungarotoxin), die auf diese Weise für Acetylcholin unangreifbar wird (Wirth und Gloxhuber, 1981).

Cardiotoxine führen zur irreversiblen Depolarisierung der Zellmembran und zu einer plötzlichen Erhöhung der Zellpermeabilität für Ionen (Wirth und Gloxhuber, 1981). Eine Folgeerscheinung ist der Erregbarkeitsverlust.

Giftkontakte mit *Lachesis* können Schwellungen von Lymphknoten und Endothelzellen zur Folge haben. Die Injektionsstellen lassen Erythrozyteninfiltrationen sowie Mikrokoagulat erkennen. In Lymphknoten sind Erythrozyten und mononucleäre Zellen nachweisbar (Efrati and Reif, 1953).

Apis mellifica

Wie bei *Lachesis* ist auch das Gift von *Apis mellifica* (Honigbiene) als Reizfaktor auf Eiweissbasis (Schütterle, 1970) zu verstehen. Bei dem aus *Apis mellifica* isolierten Haupttoxin Mellitin handelt es sich um ein hämolysierendes Toxin ohne enzymatische Aktivität (Neumann et al., 1953). Es ist ein basisches Polypeptid mit bekannter Aminosäuresequenz und einem Molekulargewicht von 2850 Dalton. Mellitin besitzt starke oberflächenaktive Eigenschaften und vermag die Kapillarpermeabilität zu steigern (Wirth und Gloxhuber, 1981). In seiner zerstörenden Wirkung auf Mastzellen ist es in der Lage, Histamin wie auch durch Zerstörung von Thrombozyten Serotonin freizusetzen. Am isolierten Diaphragma der Ratte kommt es infolge von Mellitin zur Blockade der synaptischen Transmission (Neumann et al., 1953). Neben Mellitin sind Histamin, Dopamin, Noradrenalin wie auch Hyaluronidase, Phospholipasen, Neurotoxine und MCD-Peptide – bei ihnen handelt es sich um mastzelldegranulierende Peptide und somit um hocheffiziente Histaminliberatoren – nachweisbar (Wirth und Gloxhuber, 1981).

2.4 Wirkung

Nach Wagner (1983) lassen sich heute drei Drogengruppen mit Wirkung auf das körpereigene Abwehrsystem unterscheiden:

1. Immunstimulierende Drogen, die zu einer gesteigerten Resistenz gegen bakterielle und virale Infektionen führen bzw. eine Rolle in der Tumorthherapie spielen,
2. Immunsuppressor-Zellen stimulierende Drogen, die ihren Einsatz bei Autoimmunerkrankungen finden,
3. Drogen mit adaptogener Wirkung. Adaptogene stellen biochemische Wirkstoffe dar, die aufgrund ihrer Eigenschaften in der Lage sind, unmittelbar und in physiologischer Weise in die intrazelluläre Stoffwechsel-Regulation einzugreifen und die allgemeine Adaptionsleistung der Zelle zu erhöhen. Sie unterscheiden sich von unspezifischen Reizkörpern durch die Fähigkeit der unmittelbaren biochemischen Beeinflussung zellulärer Mechanismen (Oswald und Werk, 1984).

Influx, eine Kombination aus den vier Substanzen *Echinacea*, *Aconitum napellus*, *Apis mellifica* und *Lachesis mutus*, gehört zur Gruppe der immunstimulierenden Drogen. Es wird als ein unspezifisches Reiztherapeutikum zur Steigerung der körpereigenen Abwehrkräfte bei entzündlichen Prozessen, "banalen" Infektionen und katarrhalischen Erkältungskrankheiten bezeichnet.

Echinacea

Die Wirkungsweise von Echinacea besteht vor allem in der Hyaluronidasehemmung.

Bei Hyaluronidase handelt es sich um ein Enzymsystem, welches durch Abspaltung von Hyaluronsäure die Polysaccharidstruktur und somit die Zelloberfläche verändert und auf diese Weise eine Virusinfektion ermöglicht. Entscheidend für das Haften und für die Ausbreitungsmöglichkeit von Infektionserregern ist die Viskosität der Kittsubstanz. Je höher der Polymerisationsgrad der Hyaluronsäure (Molekulargewicht zwischen 200.000 und mehreren Millionen), d.h. je grösser die Viskosität ist, desto grösserer Widerstand kann den Erregern entgegengesetzt werden (Funke, 1983). Der Polymerisationsgrad der Hyaluronsäure wird von dem Hyaluronidase-Enzym-System gesteuert, das wiederum von der herrschenden Wasserstoffionenkonzentration, dem Ionenmilieu und der Anwesenheit von Aktivatoren bzw. Inhibitoren beeinflusst wird.

Versuche von Büsing (1952) zeigten, dass durch Verabreichung von Echinacea purpurea die Depolymerisationseigenschaft der Hyaluronidase gehemmt bzw. die Stabilität hochpolymerer Hyaluronsäure gewährleistet wird. Es inaktiviert sowohl die bakterielle, als auch die gewebeigene Hyaluronidase. Echinacea hat somit eine bakteriostatische, jedoch keineswegs bakterizide Wirkung (Büsing, 1952).

Diese Ergebnisse zeigten sich bei lokaler Anwendung von Echinacin, nachgewiesen durch verschiedene Testreihen wie z.B. dem Dekapsulationstest (Funke, 1983) oder Spreading-Test (Koch und Haase, 1952) als auch durch Versuche am Tiermodell (Koch und Uebel, 1954).

Die Echinacea-Wirkung soll aber nicht nur auf direkter Hyaluronidase-Hemmung und der Aktivierung histiogener und hämatogener Phagozyten beruhen, sondern auch auf einer Aktivierung von Fibroblasten in Richtung auf Differenzierung von Fibrozyten, die ihrerseits Hyaluronsäure produzieren (Funke, 1983).

Proksch (1982) beschrieb bei Echinacea purpurea die beiden Polysaccharide I und II, die sich als pharmakologisch sehr aktiv erwiesen. Während jedoch das höher-molekulare Polysaccharid II die besten Ergebnisse im in-vivo-Test (Carbon-Clearance-Test) erzielte, waren mit dem nieder-molekularen Polysaccharid I nur im in-vitro-Test (Granulozyten-Test) sehr gute Ergebnisse erreicht worden. Ein unterschiedlicher Wirkungsmechanismus der Substanzen ist nach Proksch aufgrund ihrer verschiedenen Zusammensetzung und Grundstruktur möglich.

Hinsichtlich ihrer Wirkung auf implantierte Tumoren erwiesen sich Hemicellulose-Fractionen sowie Arabinogalaktane (= Polysaccharid II) als besonders aktiv (Whistler, 1976). Es waren hier aber keine strukturellen Gemeinsamkeiten festzustellen. Die Wirkung der Arabinogalaktane war abhängig von der verabreichten Dosis, vom Molekulargewicht und der Art der Verabreichung.

Die bei der Phagozytose sowie Aktivierung des Properdinsystems wirksamen Verbindungen sind Polysaccharidfraktionen. Unlösliche Polysaccharide sollen mit Properdin einen unlöslichen Komplex bilden, der zu einer Antigen-Antikörper-unspezifischen Komplementaktivierung führt (Orzechowski, 1963).

Properdin, das sich als hochmolekulares Euglobulin darstellt und im menschlichen Serum in Konzentrationen von 2 mg/100 ml vorkommt, soll sich in hoher Affinität an Bakterien und Viruspolysaccharide binden und diese im Zusammenhang mit Komplement unschädlich machen, wobei Magnesium-Ionen eine besondere Rolle spielen (Funke, 1983).

Bei Untersuchungen der Polysaccharid-Gesamt-Fraktion (Proksch, 1982) im Lymphozyten- und Jerne-Plaque-Test zeigte sich, dass eine erzielte Stimulierung in erster Linie über eine Aktivierung der T- und B-Lymphozyten erfolgt.

Nach Hänsel (1981) kommt es durch Komplementaktivierung bzw. Sensibilisierung von T-Lymphozyten durch Phytomitogene bzw. Antigene zu einer Aktivierung und Zunahme von Makrophagen. Die Folge sind Ausschüttung von B-Lymphozyten-Aktivierungsfaktoren - sie bewirken eine Steigerung der Immunglobulinkonzentration -, eine Erhöhung der Phagozytoserate sowie das Einsetzen der Interferonsynthese.

Auch Choné et al. (1969) und Schwarz (1984) schreiben der Pflanze Echinacea bezüglich ihrer biologischen Wirksamkeit eine eindeutige Steigerung der Phagozytoseleistung zu. Entscheidend dabei soll die bereits erwähnte Bildung von Immunkomplexen durch Bindung vorliegender Immunogene an Immunglobuline sein, für deren F_C-Anteil an den phagozytierenden Blutzellen Rezeptoren vorhanden sind (Tympner, 1981).

Hinsichtlich des Einflusses von Echinacea enthaltenden Kombinationspräparaten auf die Leukopoese bei Kaninchen führte Gerhardt (1972) einen Versuch durch, bei dem Ganzkörper-bestrahlte Tiere nach Injektion einer Esberitox-Ampullenlösung einen deutlichen Anstieg der Fermentaktivität von Leberenzymen und ebenso einen initialen Leukozytenanstieg aufwiesen. Gerbes et al. (1983) berichten sowohl von einer geringen Leukozytendepression während der Bestrahlungszeit als auch von einer rascheren Normalisierung nach Beendigung der Bestrahlung.

Untersuchungen über die antivirale Wirkung von Echinacea insbesondere gegen Herpes- und Influenza- (Schwarz, 1984), aber auch gegen Poliovirus (May und Willuhn, 1978) zeigten, dass das Prinzip nicht viruzider Natur ist, sondern eher das Eindringen des Virus in die gesunde Zelle verhindert. Im Vergleich zu Interferon gelingt eine Hemmung der Virusvermehrung durch Echinacea-Präparationen nur zu 60 bis 80 Prozent, die bis zu ca. 24 Stunden anhält (Eilmers, 1976; Wacker und Hilbig, 1978).

Antivirale Aktivität von Echinacea gegen den zytopathogenen Effekt von Encephalomyocarditis- bzw. Vesicular-Stomatitis-Virus lässt sich ebenfalls bei Mäuse-Zellkulturen (Klon 929) feststellen (Orinda et al., 1973).

Hinsichtlich der therapeutischen Wirksamkeit wurden Versuche mit den unterschiedlichsten Präparaten wie Esberitox, Influeux, Ectrosept, Echinacin etc. durchgeführt. Diese Versuche bezogen sich auf Feldstudien (Viehmann, 1978) oder wurden gezielt an Kliniken durchgeführt, um Infektionskrankheiten entgegenzutreten (Kleinschmidt, 1965) oder den Immunstatus während einer zytostatischen Behandlung (Fürstenberg, 1964) zu verbessern.

Aconitum napellus

Therapeutische Verwendung findet diese hochgiftige Pflanze (Mengen über 0,2 g sind bereits toxisch; Roth-Daunderer-Kormann, 1984) bei Neuralgien und hier besonders bei Trigeminusneuralgien sowie grippalen, fieberhaften Erkrankungen (Braun, 1979). Die Resorption erfolgt rasch über Schleimhäute bzw. den Magen-Darm-Trakt. Die bereits im Handel erhältlichen Fertigpräparate (Aconitysat R, Fa. Bürger) liegen in Tropfen- oder Salbenform vor (R.F. Weiss, 1982). Neben Tinkturen aus der gesamten Wurzelknolle kommt auch das reine Alkaloid Aconitin zur Anwendung, und zwar in kristallisierter Form. Es ist in Deutschland nicht offizinell, wird aber, namentlich als Nitrat, therapeutisch verwendet (Wirth und Gloxhuber, 1981).

Lachesis mutus und Apis mellifica

Therapeutisch wird Lachesis bei septischen Infektionen, Zell- und Gewebsschädigungen, Entzündungen, Kapillarschäden, Thrombophlebitiden, hämorrhogischer Diathese, Hämolyse und Gerinnungsstörungen eingesetzt (Schütterle, 1970).

Apis mellifica kommt bei akuten und subakuten Entzündungen der Haut, Schleimhäute, Tonsillen und Nieren sowie bei chronischem Rheumatismus zur Anwendung. Es soll neuromuskuläre Wirkungen haben und immunologische Prozesse in Gang setzen (Seeger, 1981).

Nach Schütterle (1970) sind *Apis mellifica* und *Lachesis mutus* unspezifische Reizfaktoren mit membranstabilisierender Wirkung. Diese Toxine, die körpereigene Reaktionen vor allem über den Lipidstoffwechsel beeinflussen, sind in ihrer unspezifischen Reizwirkung den Bakterientoxinen vergleichbar und üben in physiologischer Dosierung einen ausserordentlichen, zielgerichteten Reiz auf das RES aus. Aufgrund der antirheumatischen Eigenschaften lässt sich *Apis mellifica* in die Gruppe der Immunsuppressor-Zellen stimulierenden Drogen einordnen.

2.5 Problematik Monopräparate/Kombinationspräparate

Immunglobulinsteigernde Pflanzenextrakte wie z.B. Esberitox, Influeux, Acalon, Ectrosept werden in mehr oder minder gleicher Zusammensetzung unter verschiedenen Handelsnamen vertrieben. Da die meisten Fertigarzneimittel Echinacea-Extrakte lediglich als einen Bestandteil neben sehr vielen weiteren Pflanzenextrakten, tierischen Giften oder auch Mineralien aufweisen, können Untersuchungsergebnisse aus der Behandlung mit Mischpräparaten nicht mit denen von Monopräparaten gleichgesetzt werden.

Hänsel (1985) weist darauf hin, dass niemand bisher geprüft hat, ob beim Mischen so vieler Extrakte das wirksame Prinzip der Echinacea-Pflanze überhaupt in das Endprodukt gelangt.

Aber auch ein Vergleich der Kombinationspräparate untereinander sollte mit Vorbehalt ins Auge gefasst werden, zumal sie sich hinsichtlich ihrer Kombination als sehr vielfältig erweisen können.

Um diese Kombinationen richtig beurteilen und erfassen zu können, müssten Untersuchungen über jeden Extrakt wie auch Untersuchungen dieser Kombination vorliegen, um die verschiedensten Effekte wie homergischen Effekt (zwei oder mehrere Arzneistoffe lassen den gleichen pharmakologischen Effekt erkennen), heterogistischen Effekt (lediglich ein Arzneistoff der Kombination führt zu dem Effekt = Einzeleffekt) bzw. Synergismus (der Effekt der Kombination ist grösser als durch die Einzelkomponenten erklärbar) klassifizieren zu können (Ritschel, 1973).

So blieb zum Beispiel bei Untersuchungen der Serumproperdinaktivität nach Gabe der Mischpräparate Esberitox, Influeux und Acalon offen, welche Inhaltsstoffe des jeweiligen intramuskulär applizierten Präparates für diese Effekte verantwortlich waren (Graevenitz und Husmann, 1960).

Verschiedene Kombinationspräparate wie zum Beispiel Esberitox weisen *Apis mellifica* als Bestandteil auf. Untersuchungen von *Apis mellifica* bezüglich seiner Wirkung ergaben, dass die bestrahlten und mit Bienengift behandelten Versuchstiere bei 825 Rad überlebten, während alle Kontrolle nach der Bestrahlung starben (Habermann, 1968).

2.6 Problemstellung

In dieser Arbeit sollen folgende Fragen untersucht und geklärt werden:

- (a) Inwieweit lässt sich die stimulierende Wirkung des Präparates InflueX auf das Immunsystem des Haushuhns nachweisen (Immunglobulin- und Antikörpersynthese)?
- (b) Welche Aussagen lassen sich über das oben genannte Mischpräparat im Vergleich mit Echinacea-Urtinktur (= Monopräparat) sowie dem Lösungsmittel Alkohol treffen?
- (c) Ist eine Stimulation der IgG-Synthesefähigkeit bei dysgamma-globulinämischen Hühnern durch die pflanzlichen Arzneimittel InflueX bzw. Echinacea (beide jeweils in alkoholischer Lösung) möglich?

* * *

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Tiermaterial

- 3.1.1 Immunologisch intakte Leghornhühnern (Alter: 3 Monate) der Linie Heisdorf-Nelson-Lohmann (HNL).
- 3.1.2 Adulte immundefiziente (dysgammaglobulinämische) Hühner der UM-B19-Linie (Fiedler et al., 1980).
- 3.1.3 Als vergleichende Tiergruppe hierzu dienten adulte, am 19. Embryonaltag chirurgisch bursektomierte HNL-Tiere.

Die Versuchstiere wurden auf Gitterrosten gehalten. Sie erhielten pelletiertes Fertigfutter und Trinkwasser ad libitum.

3.2 Immunstimulation

Bei den als Immunstimulatoren verwendeten Substanzen handelte es sich um folgende Produkte, die freundlicherweise von der Firma Steigerwald, Darmstadt, zur Verfügung gestellt wurden:

- (a) Influx in alkoholischer Lösung (35% w/v), ein unspezifisches Reiztherapeutikum, das sich aus *Echinacea angustifolia* (0,025 mg Echinacosid/ml), *Lachesis* (D₄), *Apis mellifica* (D₆) und *Aconitum* (D₃) 3:1,5:3:1 zusammensetzt.
- (b) Influx in wässriger Lösung (aqua bidest), dieselben Stoffe in derselben Konzentration wie Influx in alkoholischer Lösung enthaltend.
- (c) *Echinacea*-Urtinktur in alkoholischer Lösung (= *Echinacea angustifolia*; im Text: "*Echinacea*")
- (d) 35% (w/v) Alkohollösung als Vergleichssubstanz (im Text: "Alkohol")

3.3 Applikation

Die aufgeführten Substanzen wurden den Versuchstieren am Tage to in unterschiedlichen Mengen in den Kropfsack pipettiert, wobei die Dosis 0,4 ml und 0,1 ml/kg Körpergewicht umfasste. Die höhere Dosierung enthielt 0,01 mg/0,4 ml, die niedrigere 0,0025 mg Echinacosid/0,1 ml.

3.4 Immunisierung

Die Tiere wurden am Tag 0 immunisiert.

Die Immunisierung erfolgte intramuskulär mit dem thymusabhängigen Antigen HSA (Human Serum Albumin, Behringwerke AG, Marburg/Lahn), auf das Kontrollhühner mit einer hohen IgG-Antwort, dysgammaglobulinämische Hühner ausschliesslich mit IgM-Antikörpern reagierten (Lösch et al., 1982).

Die Injektion erfolgte in einer Dosierung von 40 mg/kg Körpergewicht, in physiologischer Kochsalzlösung gelöst.

3.5 Blutentnahme

Die Blutentnahmen erfolgten am Ausgangstag gleich Tag 0, am Tag 5, 7 und 9 sowie bei den dysgammaglobulinämischen Tieren noch zusätzlich am Tag 14.

3.6 Serumgewinnung

Das von den Versuchstieren gewonnene Blut wurde aus der Flügelvene entnommen und 45 Minuten bei 37°C sowie anschliessend über Nacht bei 4°C inkubiert. Nach zweimaligem Zentrifugieren bei 3.000 U/min wurde das Serum abpipettiert und in Polystyrolröhrchen bei -20°C bis zur Auswertung aufbewahrt.

3.7 Antiseren

Die Herstellung der H-kettenspezifischen Antiseren erfolgte wie bei Merckenschlager et al. (1966) und Lösch et al. (1981) beschrieben.

3.8 Isolierung der Standardsubstanzen

Für die Rocket-Immunelektrophorese wurden als Standardseren ein Gemisch verschiedener normogammaglobulinämischer Hühnerseren mit geeichten Immunglobulinkonzentrationen, wie bei Schraner et al. (1982) beschrieben, verwendet. Für die Bestimmung der Antikörperkonzentrationen dienten Standardsubstanzen, die aus immunisierten Kontrollhühnern (IgG-reiche Antikörperfraktion) und immunisierten dysgammaglobulinämischen Hühnern (IgM- bzw. IgA-reiche Antikörperfraktionen) hergestellt wurden. Bei den Standardlösungen handelt es sich um durch Affinitäts-Chromatographie gereinigte Anti-HSA-Antikörper. Die Antikörperkonzentration von IgA, IgM bzw. IgG wurde mittels Rocket-Immunelektrophorese bestimmt.

3.9' Rocket-Immunelektrophorese

Für die quantitative Bestimmung der Immunglobulinkonzentration wurde die Rocketimmunelektrophorese nach Laurell (1966) herangezogen.

Die Gelmatrix bestand aus 1 %iger Agarose L ($m_R = 0,02$; Fa. LKB) in 1 : 5 verdünnten Tris-Barbituratpuffer (a) (pH = 8,6). Die Agarose wurde im Puffer durch Erhitzen bis zum Siedepunkt gelöst. 15 ml der im Wasserbad auf 55 °C abgekühlten Agarose-Puffer-Mischung wurde nach Inkorporation des entsprechenden Antiserums auf 10 x 10 x 0,2 cm grosse Glasplatten gegossen. Die Antiserumkonzentrationen betrugen für Anti- α 7 μ l/cm², für die Anti- μ 2 μ l/cm², für Anti- λ 1 μ l/cm².

In die gelierte, gleichmässig dicke Agarschicht wurden Löcher eingestanz, die mit 5 μ l des mit Tris-Barbituratpuffer (a) verdünnten Testserums gefüllt wurden. Die Elektrophorese erfolgte über Nacht bei 1 V/cm in der Kammer Multiphor 2117 (Fa. LKB, Schweden). Nach beendeter Elektrophorese wurden die Platten ca. 1 Stunde in physiologischer Kochsalzlösung gewässert, 30 Minuten mit 5 Lagen Filtrierpapier (Fa. Whatman) gepresst und anschliessend unter Heissluft getrocknet.

Für die quantitative Auswertung wurden die Agarplatten mit Coomassie Brilliant Blue G 250 (b) (Fa. Serva) gefärbt und im Anschluss entfärbt (c). Das im elektrischen Feld gegen die Anode wandernde Antigen bildet mit den Antikörpern ein konisch geformtes Präzipitāt, das nach der Färbung gut auswertbar ist (Abb. 1 - 3). Die Immunglobulinkonzentrationen der Testseren wurden mittels Eichkurven, die anhand von Standardsubstanzen erstellt wurden, bestimmt. Der lineare Korrelationskoeffizient betrug zwischen 0,989 und 0,999.

Puffer und Lösungen:

- (a) Tris-Barbituratpuffer: pH 8,6
 - 112 g Diäthylbarbitursäure (Fa. Merck)
 - 121,5 g Tris (Fa. Merck)
 - 2,66 g Calciumlactat (Fa. Merck)
 - 3,25 g Natriumacid (Fa. Merck)
 - ad 5000 ml aqua bidest
- (b) Färbelösung:
 - 450 ml Äthanol 96%
 - 100 ml Eisessig
 - 450 ml aqua bidest
 - 5 g Coomassie Brilliant Blue
- (c) Entfärbelösung:
 - 250 ml Äthanol 96%
 - 100 ml Eisessig
 - 450 ml aqua bidest

3.10 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) (modifiziert nach Engvall and Perlmann, 1972)

Der Elisa ist eine Bestimmungsmethode, bei der durch Substratumsatz eines an Antikörper gekoppelten Enzyms auf die Antikörperkonzentration eines Testserums geschlossen werden kann. Das umgesetzte Substrat stellt sich in einer Farbreaktion dar und kann photometrisch gemessen werden.

(a) Antigengewinnung.

HSA ist ein lösliches Antigen und brauchte daher nur in Natriumcarbonatpuffer (100 µg HSA/ml Puffer) gelöst zu werden.

(b) Durchführung.

Die Methode wurde mit Micro-ELISA-Platten der Firma Dynatech (Dynatech, Nürtingen) durchgeführt. Der Versuchsablauf war wie folgt:

Die Platten wurden mit 200 µl pro Kavität einer HSA-Lösung als Antigen rotierend 3 Stunden bei 37°C und anschliessend über Nacht bei 4°C beschichtet. Das nicht an die Platten absorbierte Antigen musste durch dreimaliges Spülen mit PBS-Tween entfernt werden.

In die Reihen 3 bis 12 wurden pro Kavität 50 µl PBS-Tween (PBS = phosphat gepufferte Saline), in die Reihe 2 jeweils 90 µl vorpipettiert und anschliessend 10 µl Testserum zugegeben. Pro Platte wurden ebenfalls ein Positivserum als Standard und eine Negativkontrolle mitgeführt. Mit dem Takatsy-Mikrotitrator wurde eine geometrische 1 : 2-Verdünnungsreihe hergestellt und die Platten dann rotierend bei 37°C 90 Minuten inkubiert. Nach erneutem dreimaligen Waschen mit PBS-Tween wurden die Platten mit Enzymkonjugat beschickt. Als Enzympartner wurden eingesetzt:

- (1) Alkalische Phosphatase gekoppeltes Anti-Immunglobulin, wobei sich die Verdünnung wie folgt ergab:

für IgA : 100 µl/10 ml PBS-Tween
für IgM : 50 µl/10 ml PBS-Tween
für IgG : 50 µl/10 ml PBS-Tween.

- (2) Peroxidase gekoppeltes Anti-Immunglobulin.

Die so präparierten Platten mussten ebenfalls rotierend für 90 Minuten inkubiert und anschliessend das überschüssige Konjugat durch dreimaliges Waschen mit PBS-Tween entfernt werden.



Abb. 1

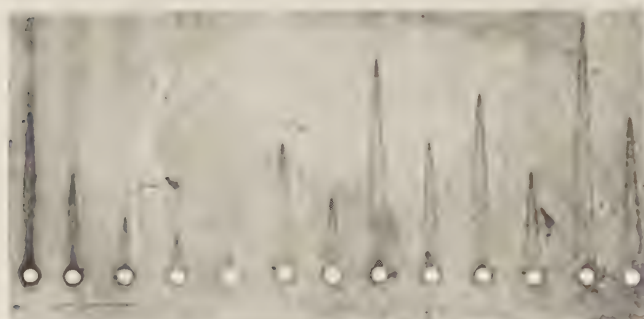


Abb. 2

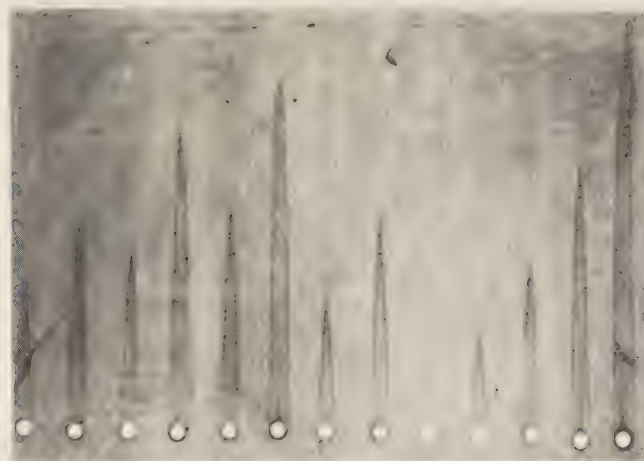


Abb. 3

- Abb. 1 - 3: Rocket-Immunelectrophorese (Laurell)
 (Quantitative Immunelectrophorese im antiserumhaltigen Agarosegel)
 Elektrophorese: Barbitalpuffer, pH 8.6 Ionenstärke 0,02;
 1V/cm, Über Nacht (18 h)
 Agarose-L + anti- β (Abb. 1), anti- α (Abb. 2) und anti- μ (Abb. 3)
 - Antisera
 Auftragsmenge: 5 μ l Serumprobe
- Abb. 1 + 2: Auftragsstellen 1-5: Standardverdünnungen
 6-13: Doppelverdünnungen von Serumproben
 vom Tag 0, 5, 7 und 9.
- Abb. 3: Auftragsstellen 1-8: Doppelverdünnungen von Serumproben
 vom Tag 0, 5, 7 und 9
 9-13: Standardverdünnungen

Nun wurden in jede Kavität 200 μ l Substratlösung einpipettiert. Fiel die Wahl des Enzyms auf Alkalische Phosphotase, diente Nitrophenylphosphat (Fa. Serva, Heidelberg) als Substrat (2 mg in 1 : 10-verdünntem AMP-Puffer). Wurde Peroxidase als Enzym verwendet, diente 5-Amino-Salicylsäure als Substrat (400 mg in 500 ml aqua dest. bei 70°C aufgelöst; der pH mit 1n NaOH auf pH 6 eingestellt). Die Lösung wurde mit 0,05 %iger H_2O_2 -Lösung im Verhältnis 10 : 1 gemischt.

Bei IgG wurde die Farbreaktion nach 9 Minuten, bei IgM nach 40 Minuten und bei IgA nach ca. 1 Stunde mit 1 n NaOH abgestoppt und die Extinktionen mit einem automatischen Photometer (Multiscan, Fa. Flow, Meckenheim) bei 450 nm für alkalische Phosphotase bzw. 406 nm für Peroxidase gemessen. Die Reihe 1 diente zur Nullpunkteinstellung des Gerätes.

(c) Auswertung der Ergebnisse.

Als Titer wurde diejenige Verdünnungsstufe angegeben, bei der eine Extinktion von 0,1 gemessen wurde. Ausgedrückt wurde dieser Titer als negativer Logarithmus zur Basis 2 der betreffenden Verdünnungsstufe. Die Werte lagen im linearen Bereich der Extinktionskurven. Die Verdünnung des Serums der zweiten Reihe mit PBS-Tween im Verhältnis 1 : 10 wurde als unverdünnte Lösung und als Titerstufe 1 angegeben.

Puffer und Lösungen:

- (a) Na-Carbonat-Puffer : pH 9,6
 8,37 g Na-Carbonat-10 Hydrat
 6,00 g Na-Hydrogencarbonat
 0,20 g Natriumacid
 ad 1000 ml aqua bidest
- (b) PBS (=phosphatgepufferte Saline) nach Dulbecco: pH 7,4
 8 g NaCl
 0,2 g KCl
 1,442 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$
 0,2 g KH_2PO_4
 ad 1000 ml aqua bidest
 Hinzugabe von 0,05 % Tween 20
- (c) Substratlösungen
 1. 2 mg p-Nitrophenylphosphat (Fa. Serva, Heidelberg) wurden in 1 ml AMP-Puffer (2-Amino-2-methyl-1 propanol-Puffer der Fa. Sigma, München) gelöst.
 2. 400 mg 5 Amino-2-Hydroxy-benzoesäure (= 5 Amino-Salicylsäure) wurden in 500 ml aqua dest bei 70°C gelöst. Der pH-Wert wurde mit 1 N NaOH auf pH 6 eingestellt. Mischung dieser Lösung mit H_2O_2 -Lösung im Verhältnis 10 : 1,

3.11 Bursektomie

Die am 19. Embryonaltag durchgeführte chirurgische Extirpation der Bursa Fabricii wurde wie bei Altmann (1984) beschrieben durchgeführt. Durch einen Längsschnitt dorsal der Kloake wurde die Bursa stumpf freipräpariert und exstirpiert sowie Bursareste durch Kauterisierung verödet. Anschliessend wurde die Chorioallantoismembran wieder zurückgeklappt und das Loch in der Eierschale mit Parafilm verschlossen. Die Schlupfrate betrug ca. 20 Prozent.

3.12 Statische Methoden

Die statistische Auswertung (Standardabweichung, Student-t-Test) wurde nach Sachs (1978) durchgeführt.

3.13 Versuchsablauf

Die Versuchstiere wurden nach einer Blutentnahme am Tag 0 mit 40 mg HSA pro kg Körpergewicht immunisiert. Anschliessend wurden ihnen die Präparate Influenza in alkoholischer Lösung, Influenza in wässriger Lösung, Echinacea-Urtinktur in alkoholischer Lösung, Alkohol (35% w/v) bzw. Wasser in den Dosen 0,1 bzw. 0,4 ml/kg Körpergewicht oral verabreicht. Nach der Erstentnahme erfolgten weitere Blutentnahmen am 5., 7. bzw. 9. Tag, um Test-Seren zu gewinnen. Die Seren wurden bis zur Verwendung anschliessend bei -20°C eingefroren sowie die Proben einer Versuchsgruppe in einem Arbeitsgang untersucht.

Die Immunglobulinkonzentrationen der einzelnen Seren wurden mit Hilfe der Rocket-Immunelektrophorese, die HSA-Antikörper vom IgG, IgM bzw. IgA-Isotyp mittels der Elisa-Testmethode festgestellt.

4. ERGEBNISSE

Die Verlaufsuntersuchungen der Serumimmunglobulinkonzentrationen (IgG, IgM und IgA) und der Anti-HSA-Titer (ausgedrückt als negativer Logarithmus zur Basis 2 der entsprechenden Verdünnungsstufe) wurden mit folgenden Tiergruppen durchgeführt.

Die Tabellen und Abbildungen geben den Verlauf der Serum-Ig-Konzentration sowie der Antikörpertiter wieder.

1. IMMUNOLOGISCH INTAKTE HNL-HÜHNER

4.1 Verabreichung der Präparate in alkoholischer Lösung.

4.1.1 Serumimmunglobulinverlauf

Die Ausgangswerte am Tag 0 wurden gleich 100% gesetzt und die folgenden Immunglobulinkonzentrationen auf den Ausgangswert bezogen. Es wurden jeweils Influecx in alkoholischer und in wässriger Lösung (soweit verfügbar), Echinacea in alkoholischer Lösung und Alkohol miteinander verglichen.

4.1.1.1 Serum-IgG-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influecx, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG (Abb.4).

Bei den drei untersuchten Tiergruppen war ein Anstieg der Serum-IgG-Spiegel bis zum 7. Tag bzw. 9. Tag nach Verabreichung zu beobachten.

Durch Gabe von Influecx betrug die IgG-Steigerung 213 % (am 7. Tag), von Echinacea 157 % (am 7. Tag) und Alkohol 154 % (am 9. Tag).

Am 9. Tag fielen die IgG-Spiegel von Influecx und Echinacea wieder ab. Bei Alkohol sanken die IgG-Konzentrationen erst am 14. Tag auf 120% (in der Abb. nicht dargestellt).

Verglichen mit dem durch Alkohol verursachten Effekt lässt sich nur bei Influecx eine Steigerung beobachten.

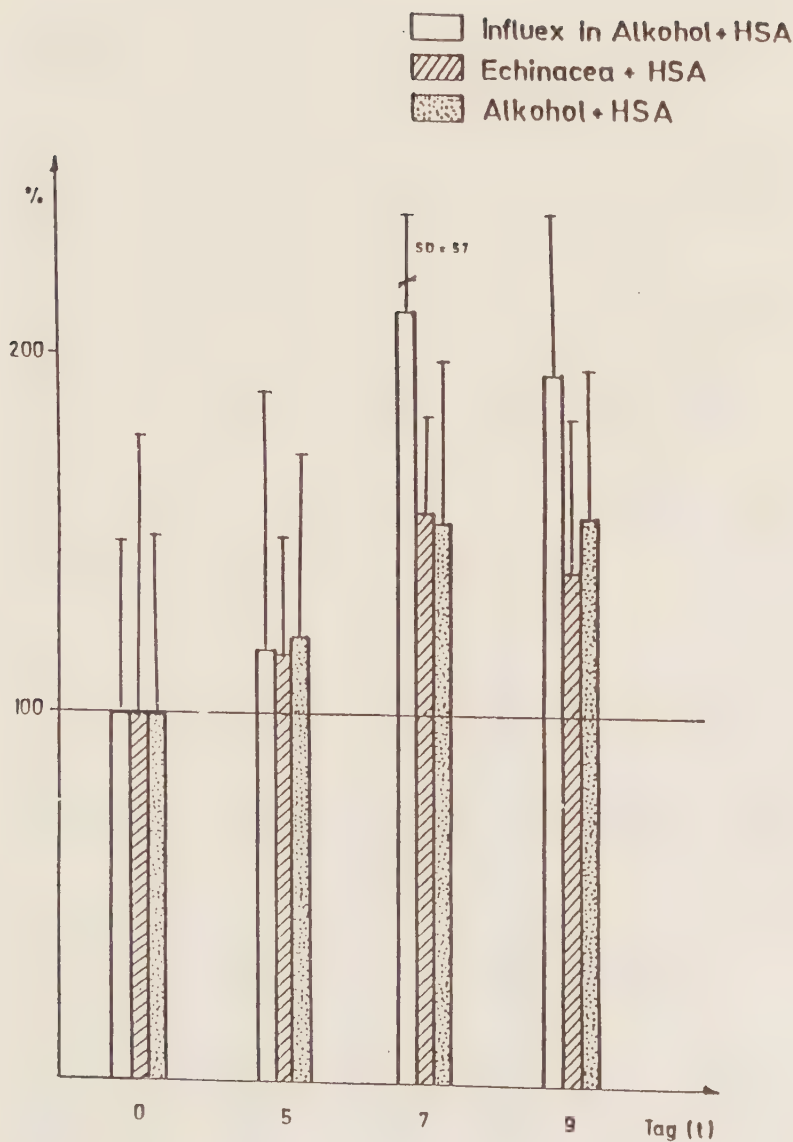


Abb.4: Serum-IgG-Konzentration nach Immunisierung mit HSA (t_0) und Verabreichung von je 0,4 ml Influenza in alkoholischer Lösung, Echinacea bzw. Alkohol bei HNL-Hühnern.

4.1.1.2 Serum-IgG-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influex, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG (Abb.5).

Gegenüber Alkohol waren bei Influe x und Echinacea eine Erhöhung der IgG-Konzentration zu beobachten. Bei der Dosis von 0,1 ml/kg KG zeigte Echinacea am 7. Tag einen Anstieg bis zu 251 %, wobei Influe x mit einem Anstieg auf 183 % noch deutlich über dem Alkoholwert von 171. % lag.

Am 9. Tag lagen die IgG-Konzentrationen der Influe x- und Echinacea-Gruppen noch sichtbar über dem Alkoholwert.

4.1.1.3 Serum-IgM-Konzentrationen nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influex, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG (Abb.6).

Nach Echinacea- bzw. Alkoholapplikation stiegen die Serum-IgM-Spiegel dieser Tiere bis zum 5. Tag, nach Influe xverabreichung bis zum 7. Tag an.

Bezüglich der Vergleichsgruppe, die Alkohol erhielt, wurde die IgM-Konzentration jedoch durch Influe x bzw. Echinacea nicht beeinflusst.

4.1.1.4 Serum-IgM-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influex, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG (Abb.7).

Alle drei Gruppen erreichten zwar am 5. Tag bei der niederen Dosierung deutlich höhere Werte, doch liess sich auch hier im Vergleich zu Alkohol kein wesentlicher Einfluss durch Influe x und Echinacea auf den IgM-Spiegel erkennen.

4.1.1.5 Serum IgA-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influex, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG (Abb.8).

Die Influe xgruppe zeigte über den Zeitraum von 9 Tagen eine nur geringfügige, aber statistisch signifikante Steigerung ($t_9 : p = 0,01$) der IgA-Konzentration. Die Echinaceagruppe wies bereits am 5. Tag einen Anstieg auf den beinahe doppelten Wert auf. Dieser Wert fiel bis zum 7. Tag um 24 % und blieb dann annähernd gleich.

Im Vergleich zur Alkoholgruppe waren die im Serum gemessenen Konzentrationen der Echinaceagruppe wesentlich höher.

- Infloux in Alkohol + HSA*
 Echinacea + HSA
 Alkohol + HSA

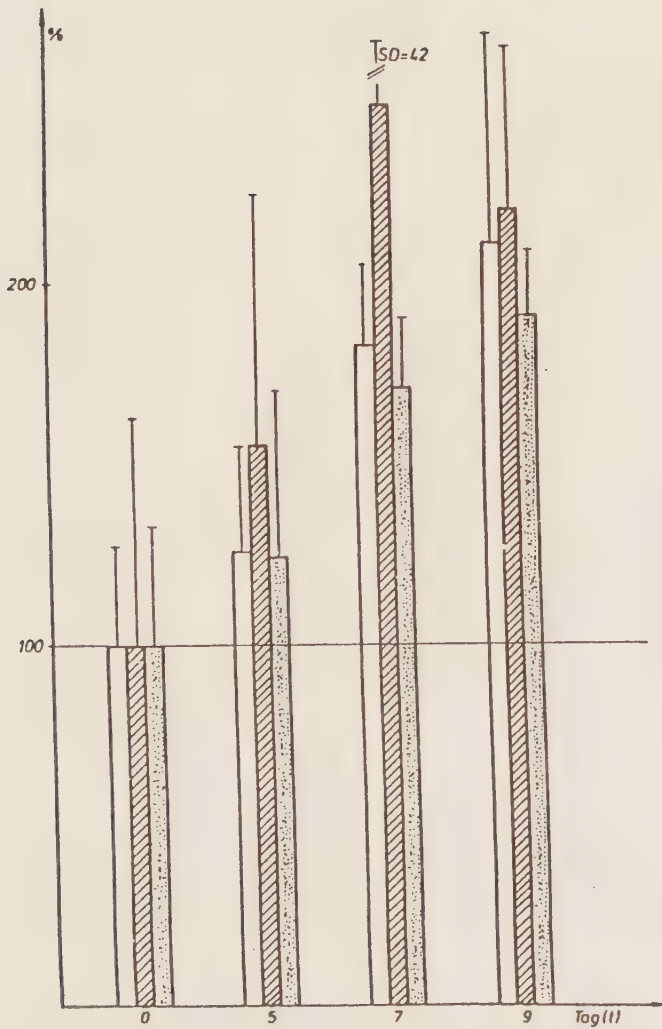


Abb.5: Serum-IgG-Konzentration nach Immunisierung mit HSA (t_0) und nach Verabreichung von je 0,1 ml Infloux in alkoholischer Lösung, Echinacea bzw. Alkohol bei HNL-Hühnern.

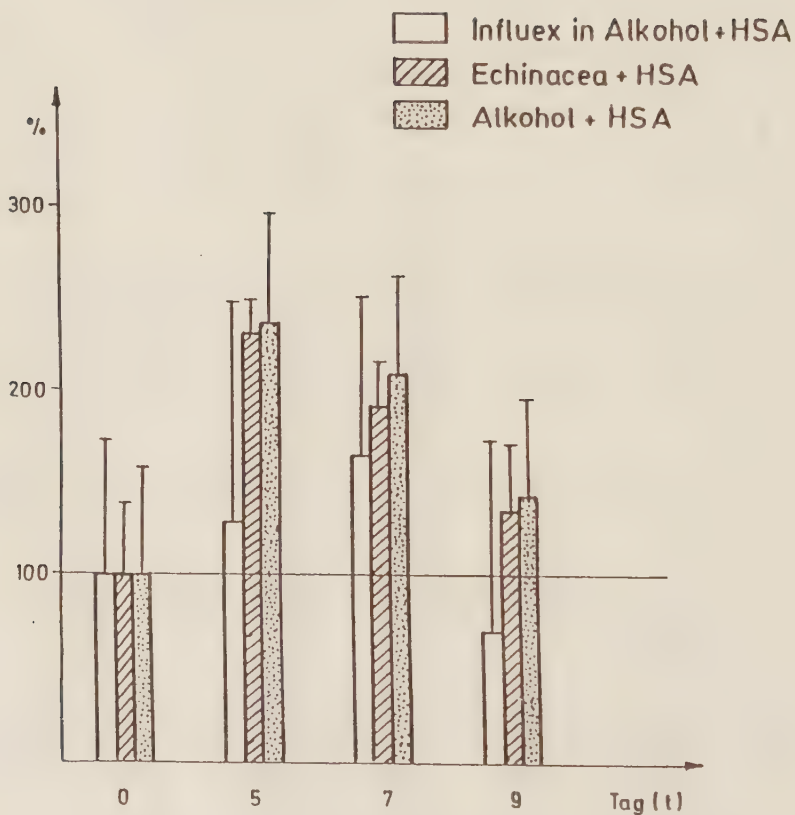


Abb.6: Serum-IgM-Konzentration nach Immunisierung mit HSA (t) und Verabreichung von je 0,4 ml Influenza in alkoholischer Lösung, Echinacea bzw. Alkohol bei HNL-Hühnern.

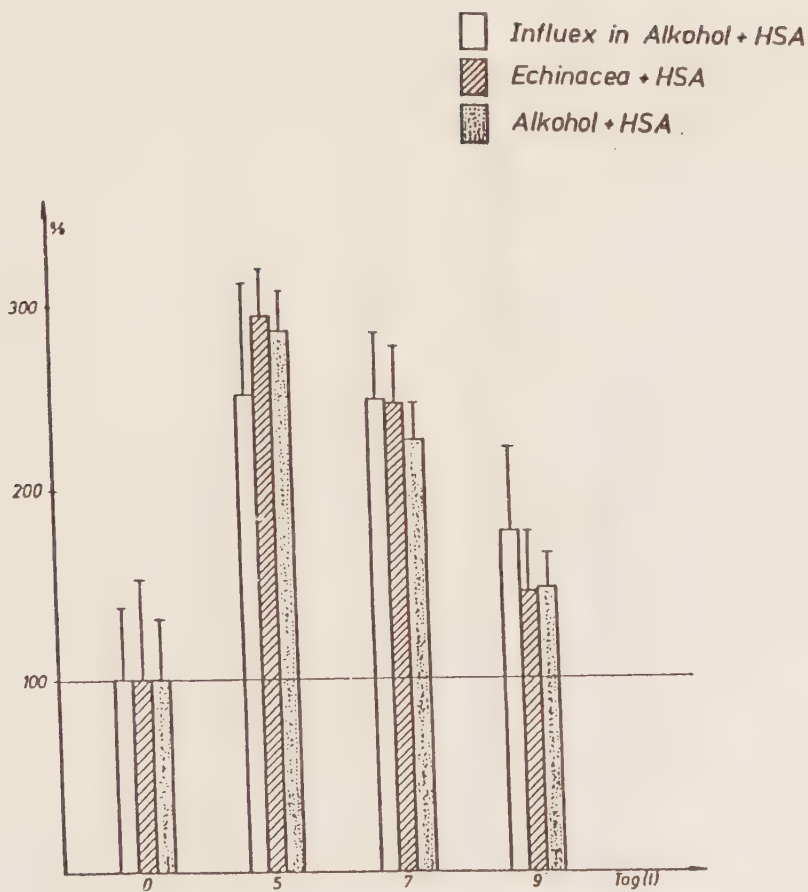


Abb.7: Serum-IgM-Konzentration nach Immunisierung mit HSA (t) und nach Verabreichung von je 0,1 ml Influenza in alkoholischer Lösung, Echinacea bzw. Alkohol bei HNL-Hühnern.

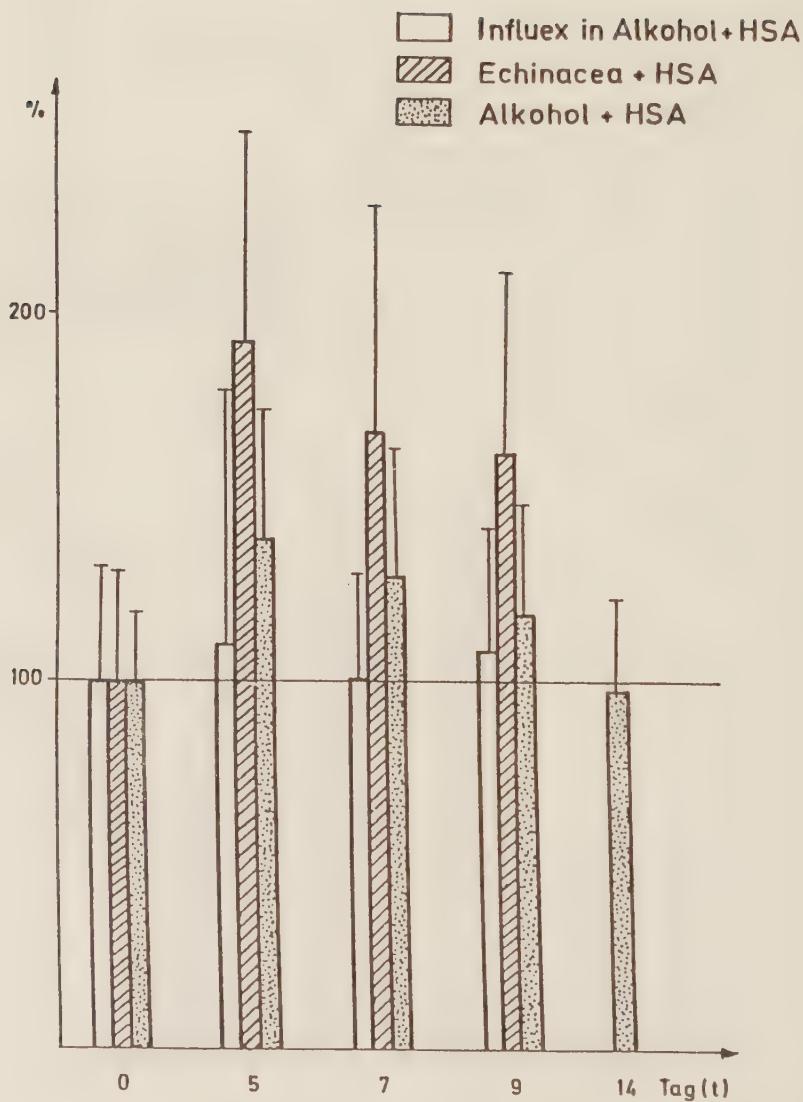


Abb.8: Serum-IgA-Konzentration nach Immunisierung mit HSA (t) und Verabreichung von je 0,4 ml Influenza in alkoholischer Lösung, Echinacea bzw. Alkohol bei HNL-Hühnern.

4.1.1.6 Serum-IgA-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influenza, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG (Abb.9).

Es liess sich bei Alkohol in der Dosierung von 0,1 ml/kg KG kein Einfluss auf die IgA-Konzentration beobachten, da die folgenden Werte den Anfangswert vom Tag 0 nicht überschritten.

Die Tiergruppe, der Influenza verabreicht wurde, zeigte dagegen eine signifikante Erhöhung der IgA-Konzentrationen ($p = 0,01$). Nach Gabe von Echinacea wurden vom 5. bis zum 9. Tag Konzentrationen erreicht, die um ca. 20 bis 30 % über den Ausgangswerten lagen.

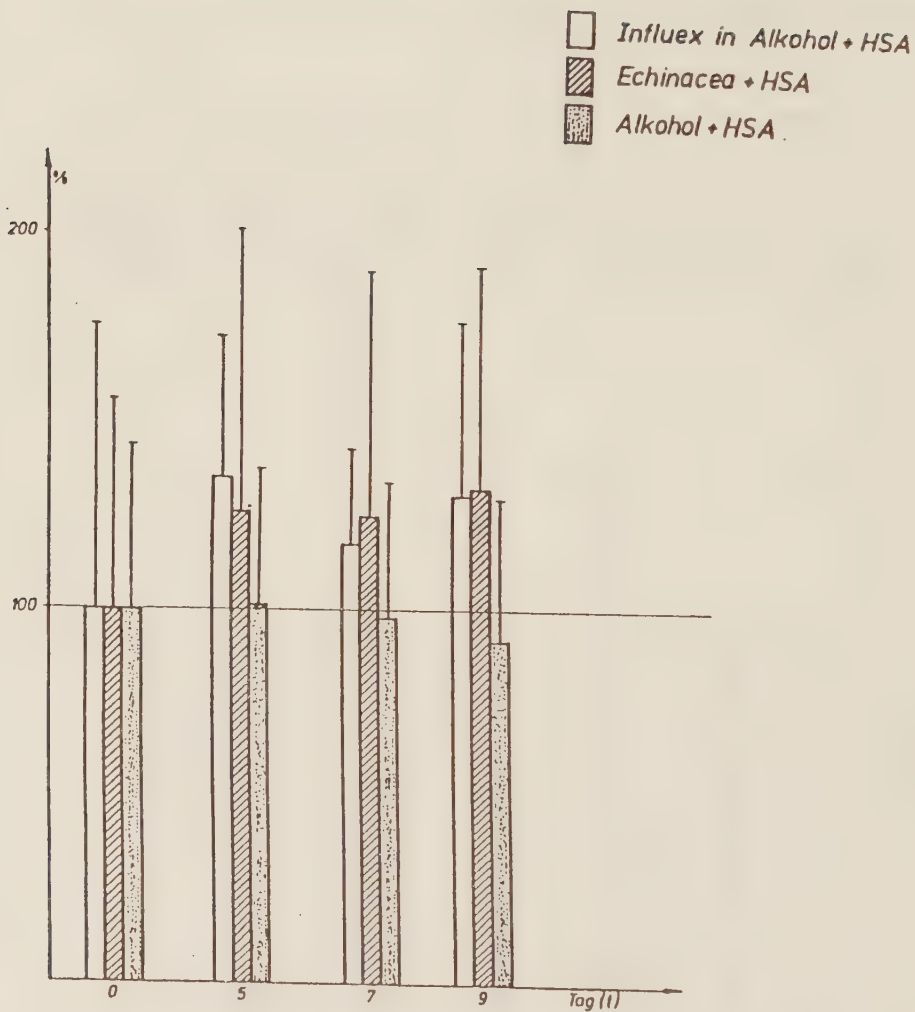


Abb.9: Serum-IgA-Konzentration nach Immunisierung mit HSA (t_0) und nach Verabreichung von je 0,1 ml Influenza in alkoholischer Lösung, Echinacea bzw. Alkohol bei HNL-Hühnern.

4.1.2 Verlauf der Anti-HSA-Titer.

4.1.2.1 Anti-HSA-Titer der IgG-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influe, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG (Abb.10).

Alle Tiere bildeten HSA-Antikörper der IgG-Klasse. Der Gipfel wurde sowohl bei Influe als auch bei Echinacea am 9. Tag erreicht. Influe induzierte einen dreimal höheren Antikörper-Titer Alkohol. Echinacea zeigte im Vergleich zu Alkohol keinen Einfluss auf die Antikörpersynthese.

4.1.2.2 Anti-HSA-Titer der IgG-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influe, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG (Abb.11).

Hier zeigte sich die Alkohol-Vergleichsgruppe der Echinaceagruppe in der Bildung von Anti-HSA-Titer überlegen. Influe erreichte gegenüber Alkohol eine 2,5-fache, gegenüber Echinacea eine 3-fache Steigerung der IgG-Antikörperproduktion.

4.1.2.3 Anti-HSA-Titer der IgM-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influe, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG (Abb.12).

im Gegensatz zu den IgG-Antikörpertitern war bereits am 5. Tag ein deutlicher IgM-Antikörper-Titer festzustellen, der bei Influe bis zum 7. Tag um mehr als das sechsfache anstieg. Verglichen mit Alkohol erreichte Influe am 7. Tag eine 2,5-fach höhere Steigerung. Am 9. Tag waren die Titer um das dreifache abgesunken. Bezüglich Alkohol war Echinacea nicht in der Lage, eine Antikörperproduktion zu induzieren.

4.1.2.4 Anti-HSA-Titer der IgM-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influe, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG (Abb.13).

Die Influegruppe zeigte eine deutliche Steigerung der IgM-Antikörper. Die maximalen Werte werden am 7. Tag erreicht. Auch die Echinacea- und die Alkoholgruppe hatten ihre Maximalwerte am 7. Tag. Bei Alkohol liess sich gegenüber den beiden anderen Gruppen ein weniger starkes Absinken der IgM-Titer bis zum 9. Tag beobachten.

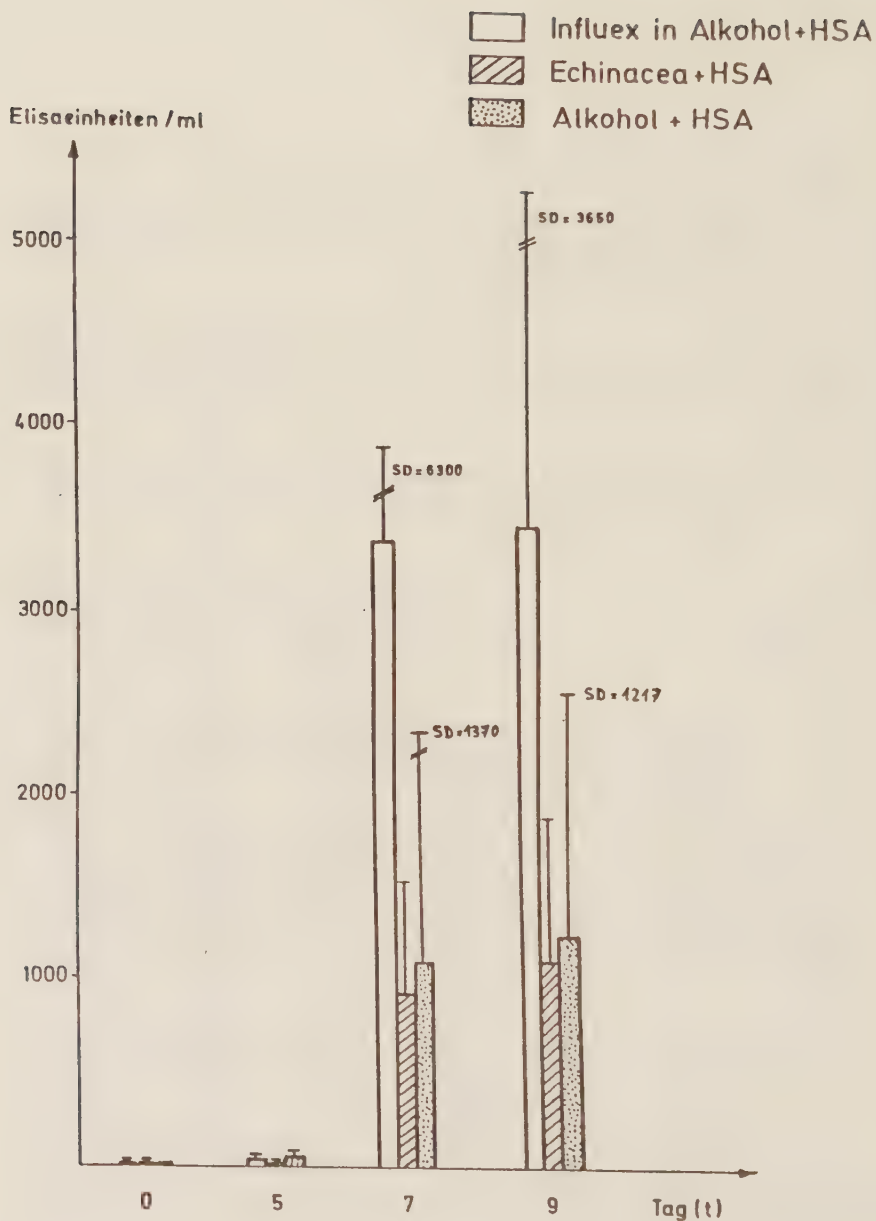


Abb. 10: Anti-HSA-IgG-Titer (Elisaeinheiten/ml) von HNL-HÜHNERN nach Gabe von je 0,4 ml Influenza in alkoholischer Lösung, Echinacea bzw. Alkohol nach Immunisierung mit HSA (t_0).

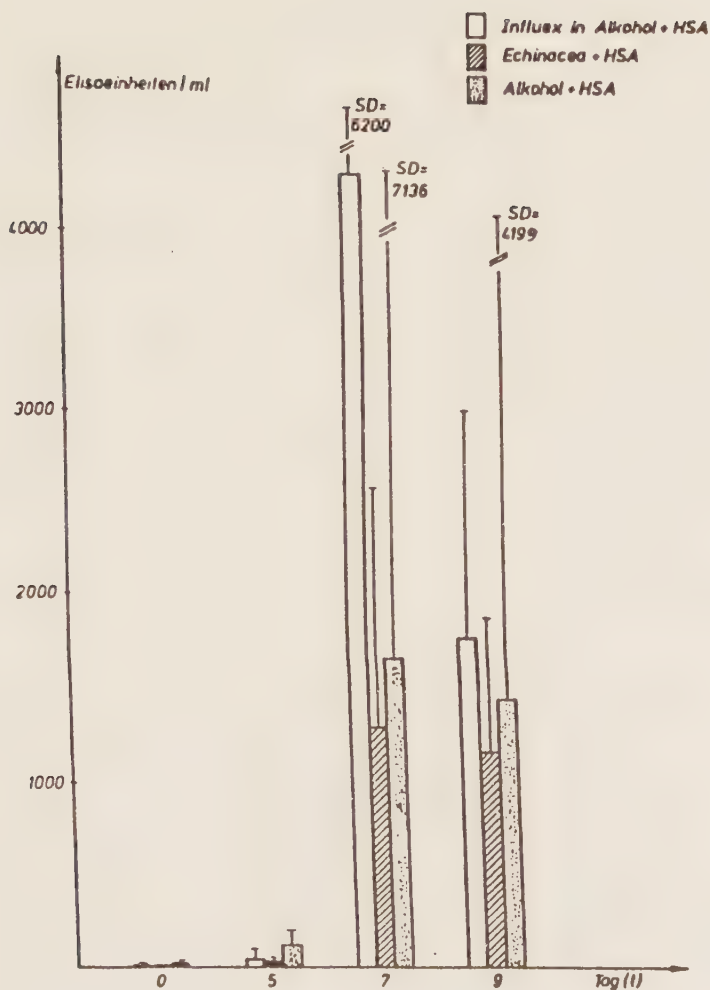


Abb.11: Anti-HSA-IgG-Titer (Elisaeinheiten/ml) von HNL-Hühnern nach Gabe von je 0,1 ml Influenza in alkoholischer Lösung, Echinacea bzw. Alkohol nach Immunisierung mit HSA.

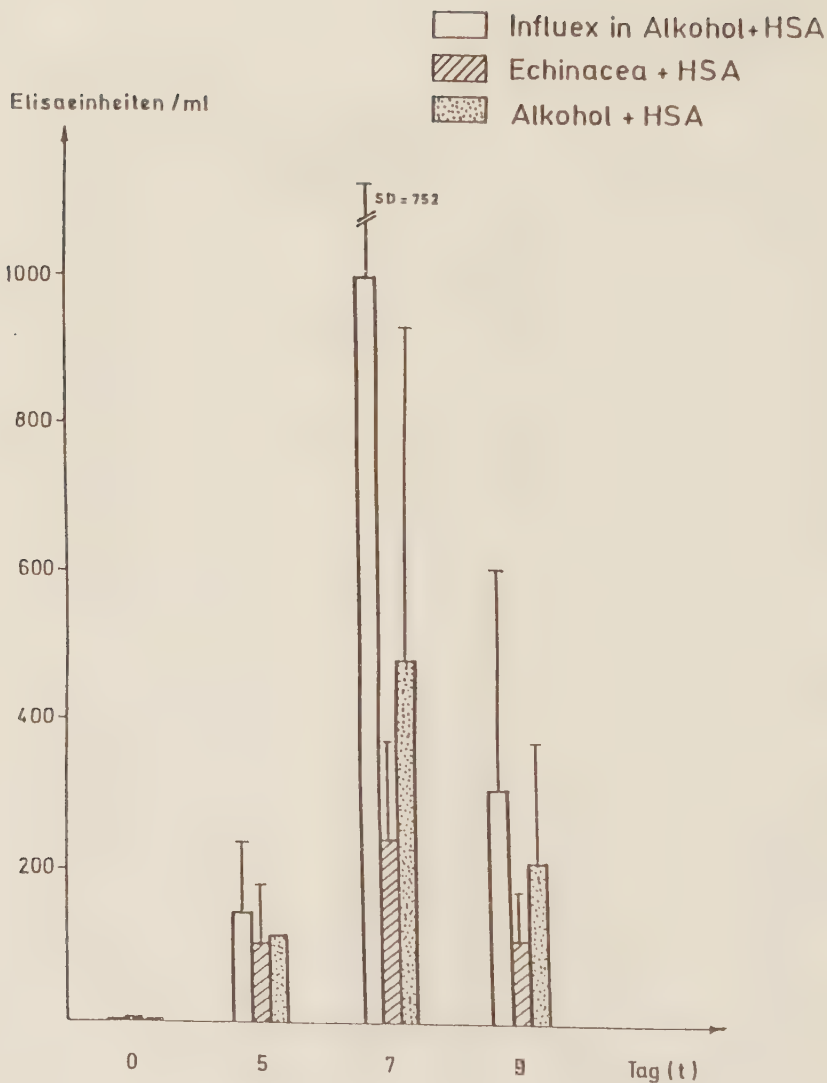


Abb. 12: Anti-HSA-IgM-Titer (Elisaeinheiten/ml) von HNL-Hühnern nach Gabe von je 0,4 ml Influenza in alkoholischer Lösung, Echinacea bzw. Alkohol nach Immunisierung mit HSA (t_0).

- Influenza in Alkohol + HSA*
 Echinacea + HSA
 Alkohol + HSA

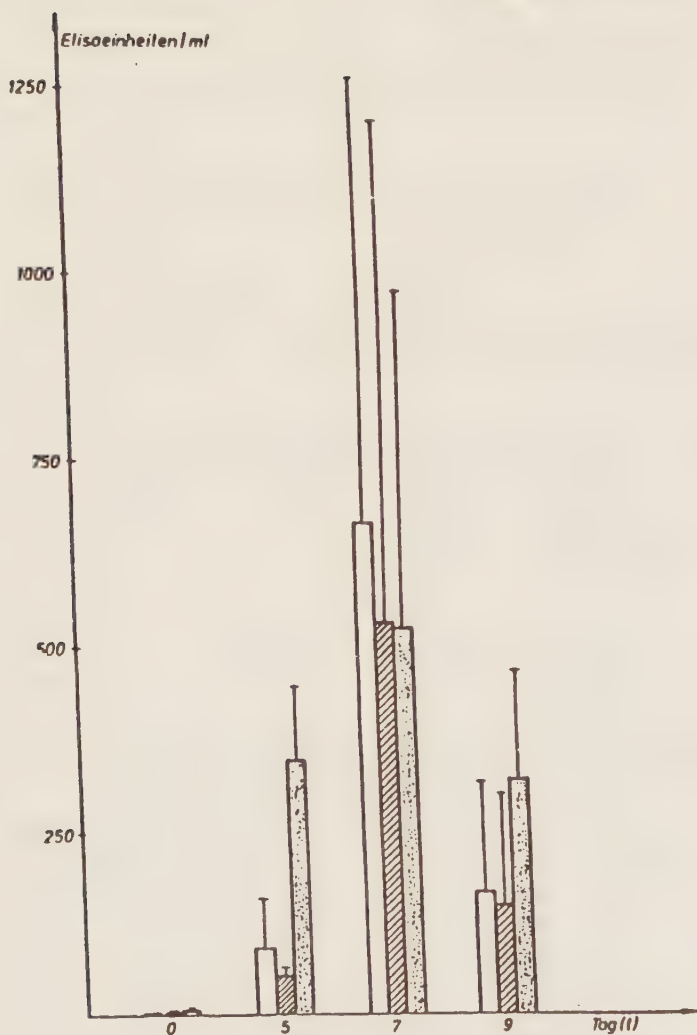


Abb. 13: Anti-HSA-IgM-Titer (Elisa-einheiten/ml) von HNL-Hühnern nach Gabe von je 0.1 ml Influenza in alkoholischer Lösung, Echinacea bzw. Alkohol nach Immunisierung mit HSA.

4.1.2.5 Anti-HSA-Titer der IgA-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von InflueX, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG (Abb.14).

Bei allen drei untersuchten Tiergruppen war eine gesteigerte Produktion von Antikörpern ausgehend von t_0 bis t_7 feststellbar, die am 9. Tag wieder abfiel.

Die Titer der Alkoholgruppe lagen beträchtlich höher als die der InflueX- bzw. Echinacea-Gruppe. Im Vergleich zu Alkohol besitzen sowohl InflueX als auch Echinacea in dieser Dosierung keine Antikörper-Titer steigernde Wirkung.

4.1.2.6 Anti-HSA-Titer der IgA-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von InflueX, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG (Abb.15).

Im Gegensatz zu der höheren Dosierung war bei den Tieren nach Verabreichung von InflueX in der niederen Dosierung am 7. Tag ein deutlicher IgA-Antikörpertiter festzustellen, der den nach Alkoholapplikation erreichten Titer um das 2,5-fache überstieg.

Im Vergleich zum Alkohol zeigte Echinacea keine IgA-Antikörpersteigernde Wirkung.

4.2 Verabreichung der Präparate in wässriger Lösung.

4.2.1 Serumimmunglobulinverlauf.

4.2.1.1 Serum-IgG-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von InflueX in wässriger Lösung bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG (Abb.16).

InflueX in wässriger Lösung zeigte mit geringen Abweichungen fast dieselbe IgG-Steigerung wie InflueX mit Alkohol. Die maximalen Werte wurden am 7. Tag erreicht. Sie lagen um 50 % höher als die Werte der Vergleichsgruppe, die Wasser in derselben Dosierung erhielt. Diese Vergleichsgruppe zeigte am 9. Tag die maximale im Serum nachweisbare IgG-Konzentration. Der Spiegel sank am 14. Tag auf 151 % ab.

4.2.1.2 Serum-IgM-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von InflueX in wässriger Lösung bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG (Abb.17).

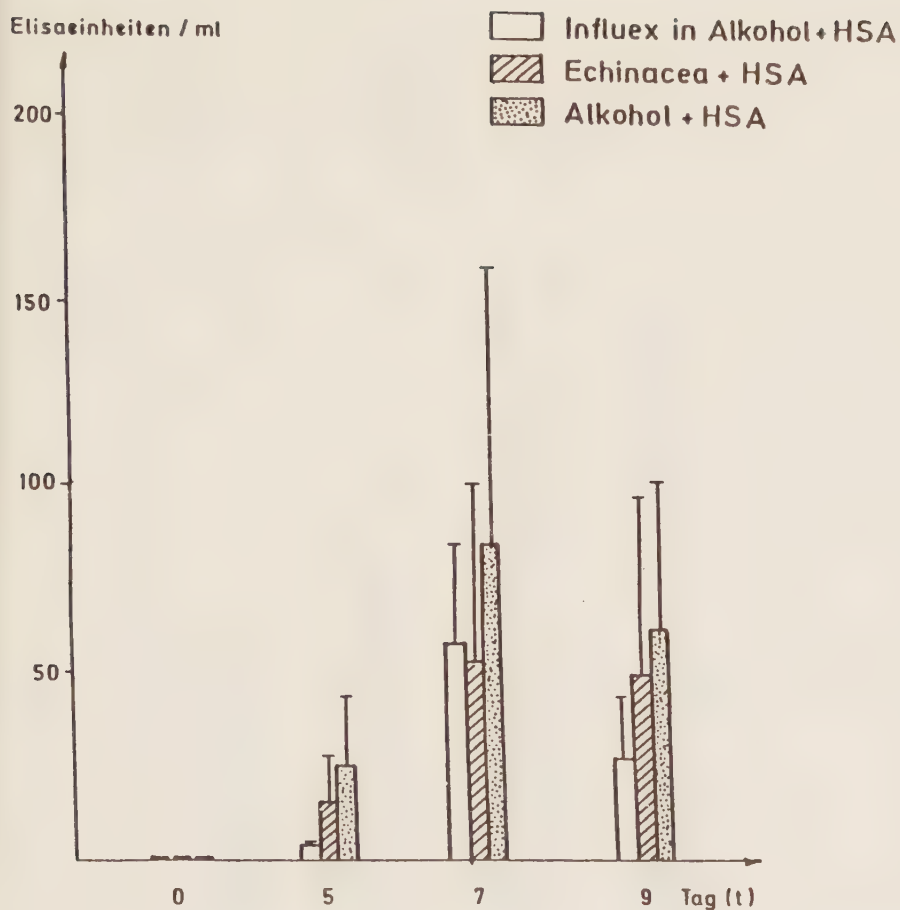


Abb.14: Anti-HSA-IgA-Titer (Elisaeinheiten/ml) von HNL-Hühnern nach Gabe von je 0,4 ml Influenza in alkoholischer Lösung, Echinacea bzw. Alkohol nach Immunisierung mit HSA (t_0).

Elisaeinheiten / ml

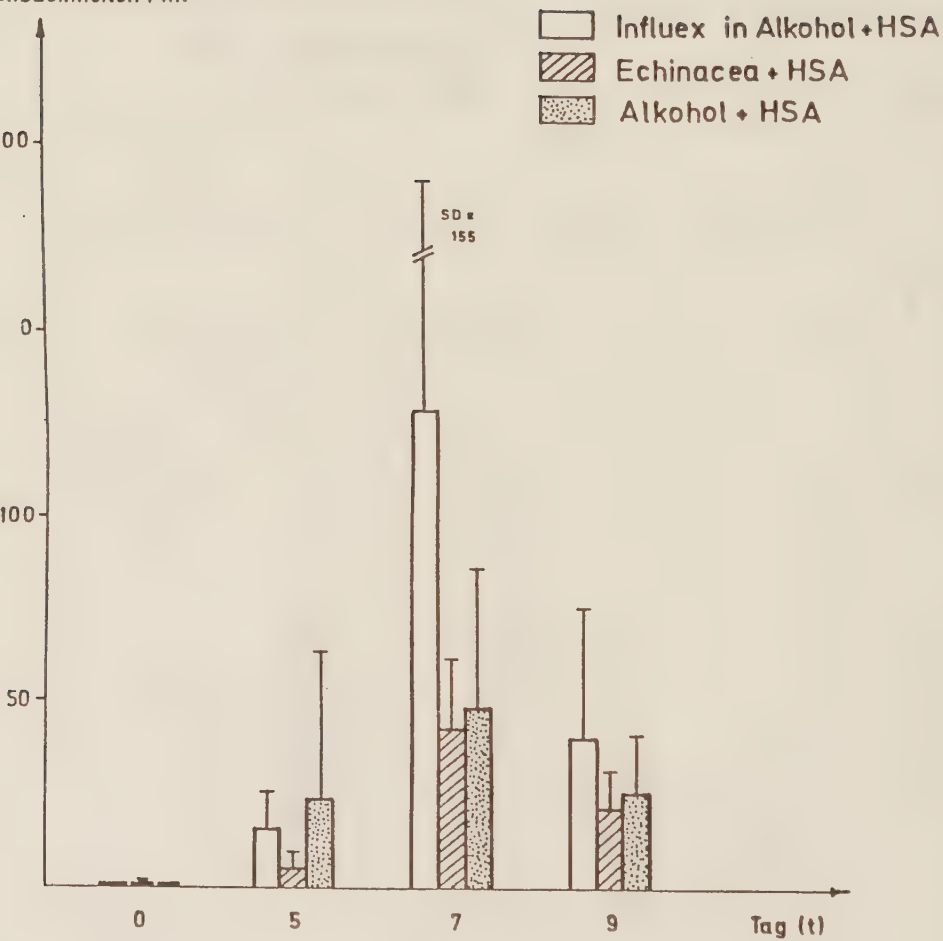


Abb.15: Anti-HSA-IgA-Titer (Elisaeinheiten/ml) von HNL-Hühnern nach Immunisierung mit HSA (to) und Gabe von 0,1 ml Influenza in alkoholischer Lösung, Echinacea bzw. Alkohol

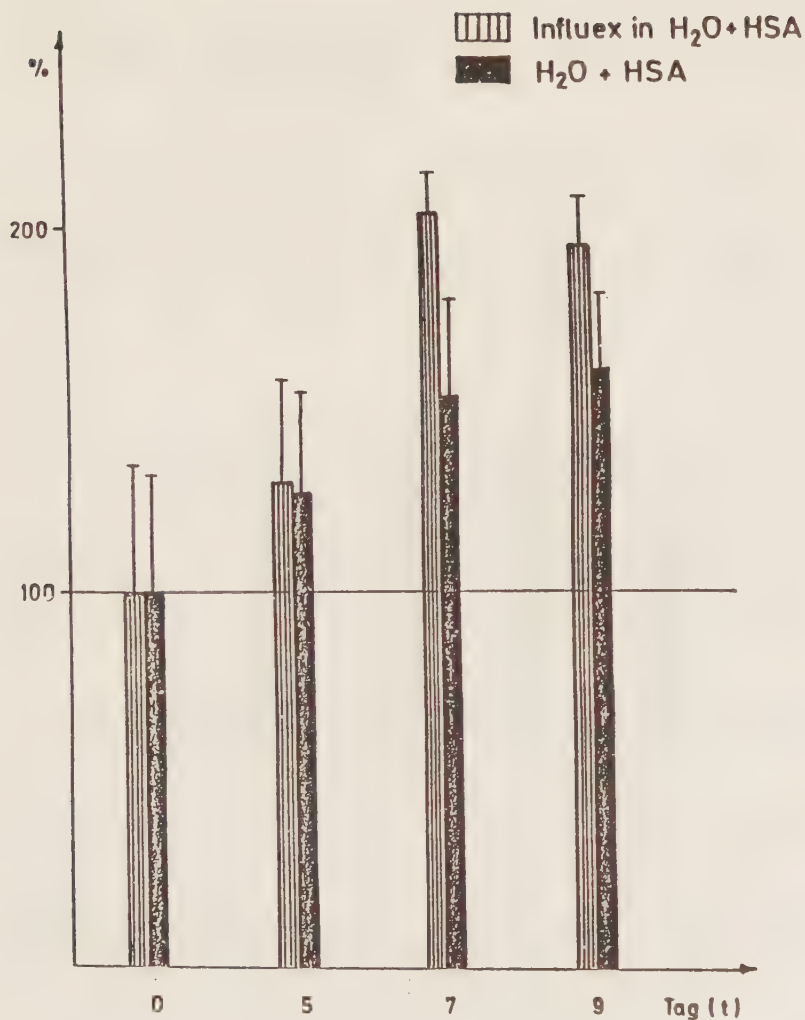


Abb. 16: Serum-IgG-Konzentration nach Immunisierung mit HSA (t_0) und Verabreichung von je 0,4 ml Influenza in wässriger Lösung bzw. Wasser bei HNL-Hühnern.

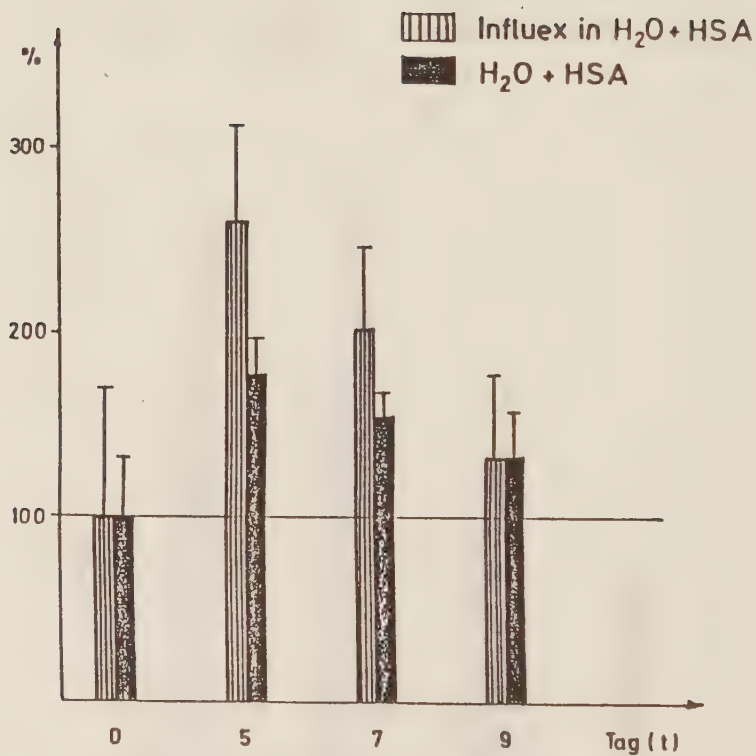


Abb.17: Serum-IgM-Konzentration nach Immunisierung mit HSA (t_0) und nach Verabreichung von je 0,4 ml Influenza in wässriger Lösung bzw. Wasser bei HNL-Hühnern.

Beide Tiergruppen zeigten im Vergleich zu den Tieren, die Influe in alkoholischer Lösung erhielten, über den gesamten Zeitraum von 9 Tagen eine deutliche Erhöhung der IgM-Spiegel ($p = 0,0012$). Die Steigerung der IgM-Konzentration, die nach Influeapplikation auftrat, ist gegenüber den anderen Gruppen signifikant. Das Maximum wurde bereits am 5. Tag erreicht ($p = 0,003$), die Konzentrationen sanken dann bis zum 14. Tag ab (in der Abb. nicht dargestellt).

4.2.1.3 Serum-IgA-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influe in wässriger Lösung bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG (Abb.18).

Influe in wässriger Lösung zeigte mit Erreichen der maximalen Konzentration bis zum 5. Tag signifikante IgA-Werte gegenüber der Wassergruppe, deren Konzentrationen bis einschliesslich zum 7. Tag unter 100 % abfielen.

4.2.2 Verlauf der Anti-HSA-Titer.

4.2.2.1 Anti-HSA-Titer der IgG-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influe in wässriger Lösung bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG (Abb.19).

Beide Gruppen bildeten HSA-Antikörper der IgG-Klasse. Die Gipfel werden sowohl bei Influe in wässriger Lösung als auch bei Wasser am 9. Tag erreicht. Die nach Wasserapplikation erreichten Titer wurden von Influe in wässriger Lösung um beinahe das sechsfache übertroffen, wobei sich bei beiden Gruppen ein starkes Absinken der Titer am 14. Tag beobachten liess.

4.2.2.2 Anti-HSA-Titer der IgM-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influe in wässriger Lösung bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG (Abb.20).

Ähnlich der Gruppe, die Influe mit Alkohol erhielt, liess sich bei Influe in wässriger Lösung gegenüber Wasser eine überragende Steigerung der IgM-Antikörper beobachten, wobei maximale Werte am 7. Tag erreicht wurden.

4.2.2.3 Anti-HSA-Titer der IgA-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influe in wässriger Lösung bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG (Abb.21).

Im Gegensatz zu den IgG- und IgM-Antikörpertitern war der Einfluss von Influe in wässriger Lösung auf die IgA-Antikörpersynthese im Vergleich zu Wasser sehr gering. Mit Erreichen des Maximums am 7. Tag überragte Wasser Influe in wässriger Lösung um beinahe das Doppelte. Erst am 9. Tag war der Effekt von Influe doppelt so hoch wie der von Wasser.

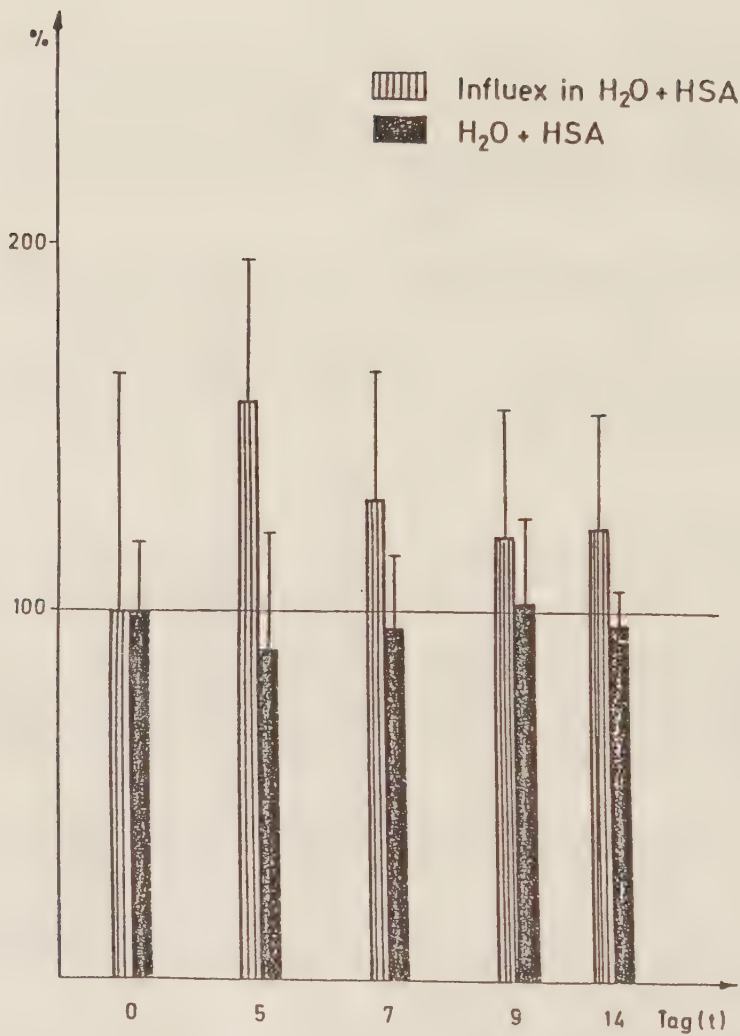


Abb.18: Serum-IgA-Konzentration nach Immunisierung mit HSA (t) und nach Verabreichung von je 0,4 ml Influenza in wässriger Lösung bzw. Wasser, bei HNL-Hühnern.



Abb.19: Anti-HSA-IgG-Titer (Elisaeinheiten/ml) von HNL-Hühnern nach Gabe von je 0,4 ml Influenza in wässriger Lösung bzw. Wasser nach Immunisierung mit HSA (t_0).

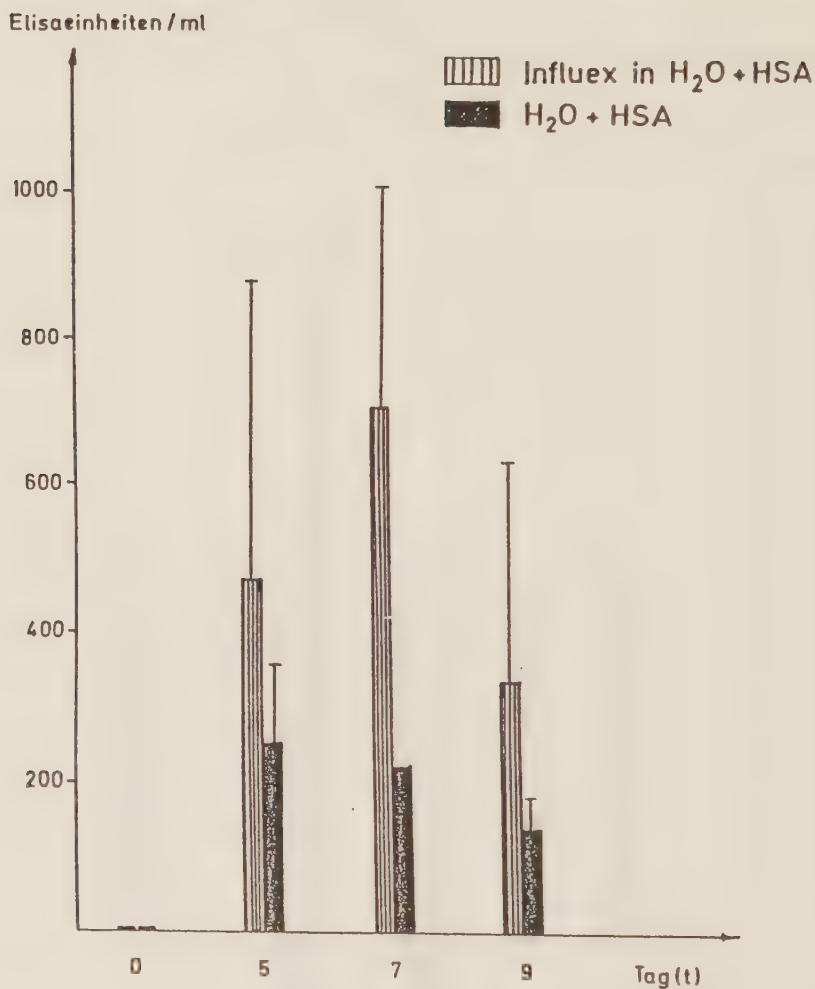


Abb.20: Anti-HSA-IgM-Titer (Elisaeinheiten/ml) von HNL-Hühnern nach Gabe von je 0,4 ml Influx in wässriger Lösung bzw. Wasser nach Immunisierung mit HSA (t_0).

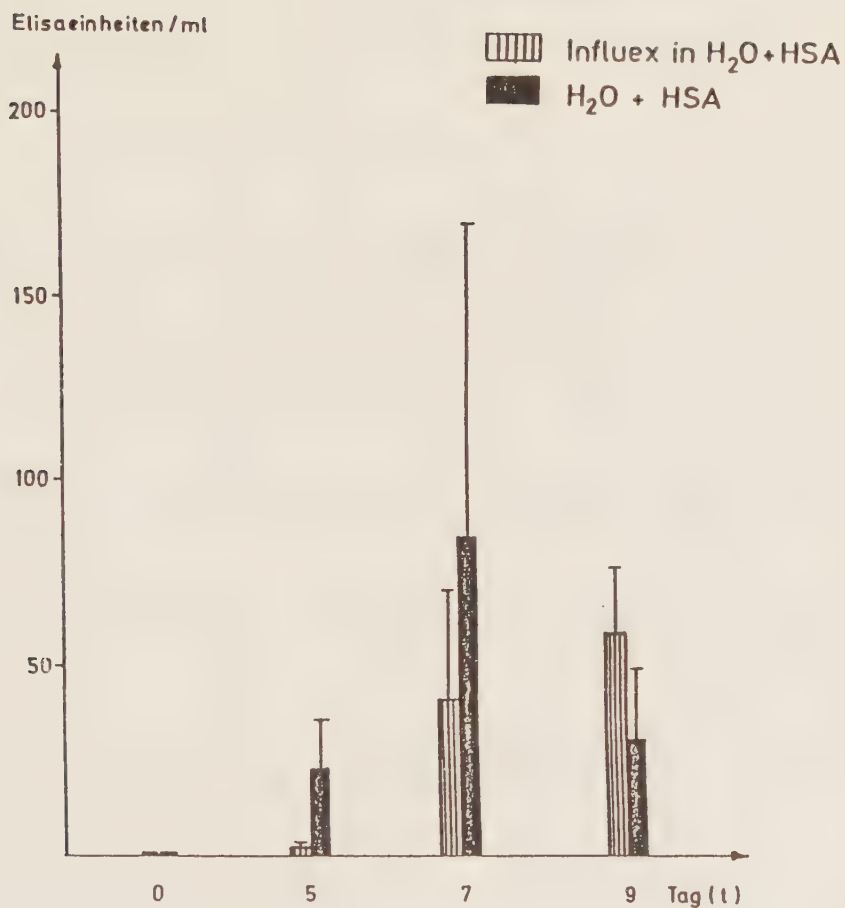


Abb.21: Anti-HSA-IgA-Titer (Elisaeinheiten/ml) von HNL-Hühnern nach Gabe von je 0,4 ml Influenza in wässriger Lösung bzw. Wasser nach Immunisierung mit HSA (t_0).

II. IMMUNOLOGISCH DEFЕКTE DYSGAMMAGLOBULINÄMISCHE HÜHNER DER UM-B19-LINIE

Vorläufige, orientierende Untersuchungen an immunologisch defekten Hühnern führten zu folgenden Ergebnissen:

4.3 Verabreichung der Präparate in alkoholischer Lösung

4.3.1 Serumimmunglobulinverlauf

4.3.1.1 Serum-IgG-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influeх, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung), Alkohol bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG.

Wie aus Abb.22 ersichtlich, erreichten zwei der drei untersuchten Tiere (T1, T2) 9 Tage nach Influeхgabe maximale IgG-Konzentrationen mit dem 40- bzw. 35-fachen der Ausgangswerte. Ab dem 9. Tag sanken die IgG-Spiegel wieder. Das dritte Tier (T3) liess keine nennenswerte Beeinflussung durch Influeх erkennen.

Nach Echinaceagabe (Abb.23) zeigten im Vergleich zu Alkohol zwei von drei untersuchten Tieren keine messbaren IgG-Konzentrationen. Gegenüber dem Ausgangswert waren die IgG-Werte bei T2 um fast das Vierfache erhöht.

Die Applikation von Alkohol (Abb.22/23) ergab bei Tier T5 keine Beeinflussung; bei dem zweiten Tier (T4) war ein geringfügiger Anstieg bis zum 14. Tag festzustellen.

Nach der Verabreichung von Wasser konnte keine Steigerung der IgG-Konzentration festgestellt werden (Abb.22/23).

4.3.1.2 Serum-IgG-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influeх, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG.

Nach Gabe von Influeх (Abb.24) sank die IgG-Konzentration von T2 vorübergehend ab und stieg dann bis zum 14. Tag kontinuierlich an. T1 und T3 liessen nach Influeхgabe keine Stimulation der IgG-Synthese erkennen.

Im Vergleich zu Alkohol zeigte sich bei den drei untersuchten Tieren nach Echinaceaapplikation keine Beeinflussung (Abb.25).

Abb. 22

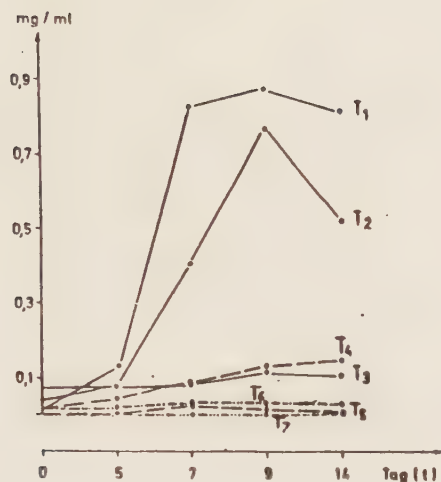


Abb. 23

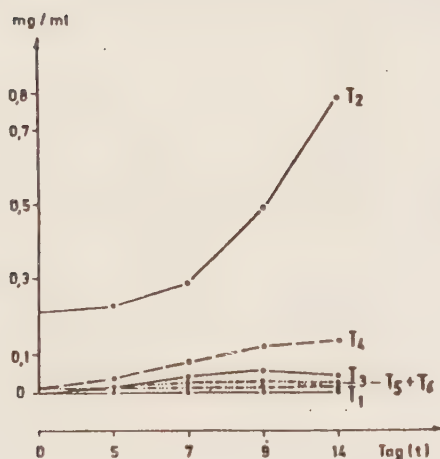


Abb. 22: Serum-IgG-Konzentration von dysgammaglobulinämischen UM-B 19-Hühnern nach Immunisierung mit HSA und Gabe von 0,4 ml Influenza in alkoholischer Lösung (T1, T2, T3) (—), Alkohol (T4, T5) (----) und H₂O (T6, T7) (-.-.-.-.-)

Abb. 23: Serum-IgG-Konzentration von dysgammaglobulinämischen UM-B 19-Hühnern nach Immunisierung mit HSA und Gabe von 0,4 ml Echinacea (T1, T2, T3) (—), Alkohol (T4) (----) und H₂O (T5, T6) (-.-.-.-.-)

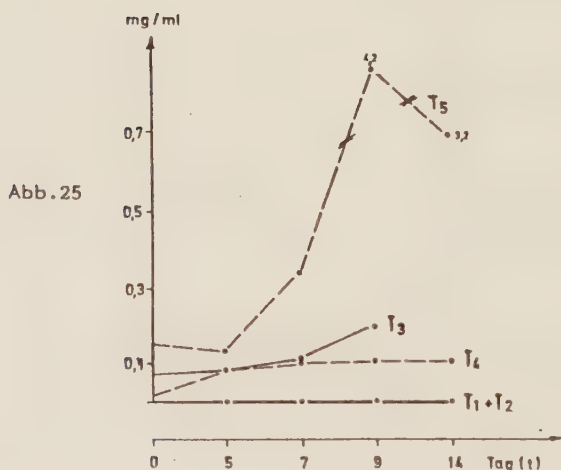
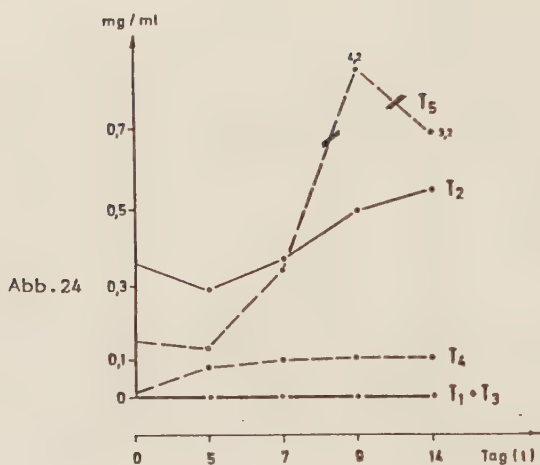


Abb. 24: Serum-IgG-Konzentration von dysgammaglobulinämischen UM-B 19-Hühnern nach Immunisierung mit HSA und Gabe von 0,1 ml Influenza in alkoholischer Lösung (T₁, T₂, T₃) (—) und Alkohol (T₄, T₅) (---, ----).

Abb. 25: Serum-IgG-Konzentration von dysgammaglobulinämischen UM-B 19-Hühnern nach Immunisierung und Gabe von 0,1 ml Echinacea in alkoholischer Lösung (T₁, T₂, T₃) (—) und Alkohol (T₄, T₅) (---, ----).

Alkohol erbrachte bei T4 (Abb.24/25), ausgehend von einer am Tag to nicht messbaren IgG-Konzentration, eine Steigerung auf maximal 0,1 mg/ml. Dieser Wert blieb bis zum 14. Tag auf gleichem Niveau. Bei T5 liess sich am 7. Tag nach Verabreichung ein extrem hoher Anstieg auf 4 mg/ml beobachten. Am 14. Tag betrug die Konzentration noch 3 mg IgG/ml.

4.3.1.3 Serum-IgM- bzw. IgA-Konzentration nach Immunisierung mit HSA und Verabreichung von Influe, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung), Alkohol bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG bzw. 0,1 ml/kg KG.

Die Serum-IgM-Konzentrationen liessen bei beiden Dosierungen keine wesentlichen Steigerungen, eher geringfügige Abnahmen erkennen (deshalb in den Abb. nicht dargestellt), wobei sich die Konzentrationen über den Zeitraum von 14 Tagen wieder auf die Ausgangspunkte einpendelten.

Ähnliches stellte sich auch bei den Serum-IgA-Konzentrationen dar. Die Messwerte blieben während des 14-tägigen Versuchszeitraumes in der Mehrzahl der Fälle konstant.

4.3.2 Verlauf der Anti-HSA-Titer

4.3.2.1 Anti-HSA-Titer der IgG-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influe, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung), Alkohol bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG.

Alle drei mit Influe behandelten Tiere (T1, T2, T3) zeigten am Tag to keine messbaren Ausgangstiter (Abb.26). Die Antikörperbildung setzte bei T2 und T3 am 5. Tag ein, erreichte ihr Maximum am 9. Tag und sank daraufhin bis zum 14. Tag. Beide Verläufe waren gleich, wobei T3 allerdings am 9. Tag einen doppelt so hohen Titer aufwies. Bei T1 liess sich keine Stimulierung durch Influe nachweisen.

Auf Echinaceagabe (Abb.27) reagierten zwei Tiere (T1, T2) überhaupt nicht. Tier T3 zeigte bis zum 7. Tag keine IgG-Antikörperbildung. Am Tag t9 stieg der Titer auf 100 Elisaeinheiten/ml und blieb bis zum 14. Tag auf demselben Niveau.

Die Verabreichung von Alkohol (Abb.26, 27) bzw. von Wasser (nicht dargestellt) erbrachte eine unerhebliche bzw. keine Stimulierung der Antikörperproduktion.

Abb. 26

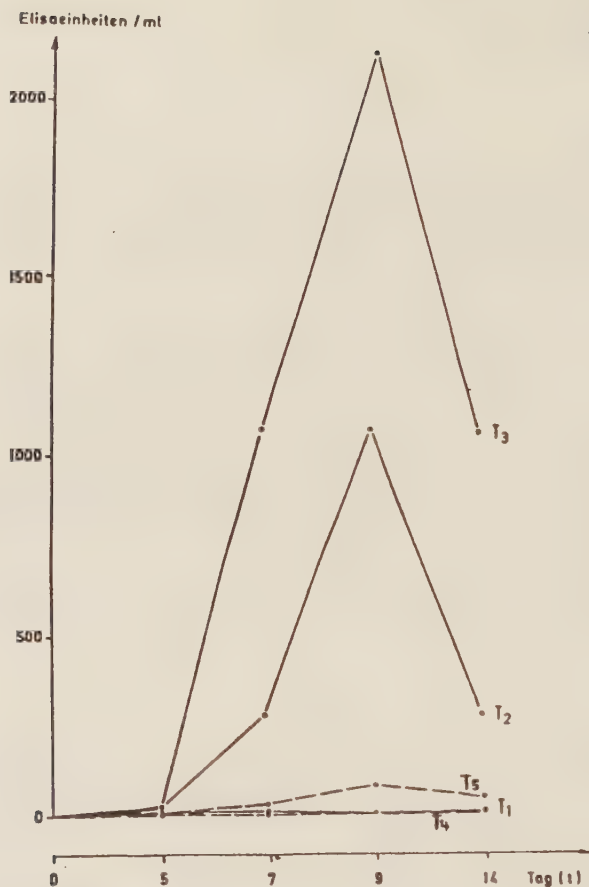


Abb. 27

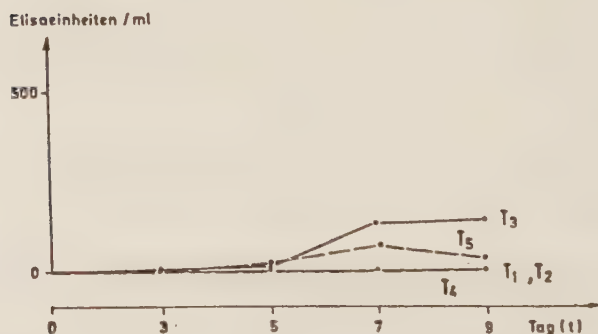


Abb. 26: Anti-HSA-IgG-Titer von dysgammaglobulinämischen UM-B 19-Hühnern nach Immunisierung mit HSA und Gabe von 0,4 ml Influenza in alkoholischer Lösung (T1, T2, T3) (—) und Alkohol (T4, T5) (----).

Abb. 27: Anti-HSA-IgG-Titer von dysgammaglobulinämischen UM-B 19 Hühnern nach Immunisierung mit HSA und Gabe von 0,4 ml Echinacea in alkoholischer Lösung (T1, T2, T3) (—) und Alkohol (T4, T5) (----).

4.3.2.2 Anti-HSA-Titer der IgG-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influeux, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG.

Nach Applikation von Influeux in niedriger Dosierung (Abb.28) konnten bei zwei von drei untersuchten Tieren (T1, T2) keine messbaren Antikörpertiter festgestellt werden.

Das dritte Tier T3 antwortete am 5. Tag mit einer Antikörperbildung; das Maximum wurde am 9. Tag (500-fache Menge) erreicht und blieb bis zum 14. Tag auf dem gleichen Niveau.

Alle drei Tiere (T1, T2, T3) liessen sich durch Echinacea (Abb.29) zu keiner IgG-Antikörperbildung stimulieren.

Alkohol erbrachte ebenfalls keine Steigerung der Antikörperproduktion (T4, Abb.28, 29).

4.3.2.3 Anti-HSA-Titer der IgM-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influeux, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung), Alkohol bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG.

Nach Applikation von Wasser antworteten die Tiere T5 und T6 mit einer Antikörperbildung, deren Maximalwerte bei T5 am 7. Tag, bei T6 verzögert erst am 14. Tag erreicht wurden (Abb.30, 31).

Nach Alkoholgabe liess sich ein gleichmässig verlaufender Anstieg der IgM-Antikörpertiter mit gleichbleibendem Plateau bis zum 14. Tag beobachten.

Im Vergleich zu diesen beiden Substanzen wies, wie aus Abb.30 ersichtlich, nur eines von drei untersuchten Tieren (T2) nach Influeuxgabe eine deutliche Antikörperbildung auf.

Nach Verabreichung von Echinacea zeigte sich keine eindeutige Stimulierbarkeit der IgM-Antikörpersynthese (Abb.31).

4.3.2.4 Anti-HSA-Titer der IgM-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influeux, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG.

Im Vergleich zu Alkohol bzw. Wasser erbrachte die Verabreichung von Influeux (Abb.32) bei zwei von drei behandelten Tieren (T1, T2) hohe IgM-Antikörpertiter. Sie erreichten ihre Höchstkonzentrationen am 9. Tag; die Titer fielen bis zum 14. Tag rasch wieder ab. Die bei T1 gemessene Konzentration war doppelt so hoch wie die Konzentration bei T2.

Bei T3 zeigte Influeux keinen Einfluss auf die IgM-Titer.

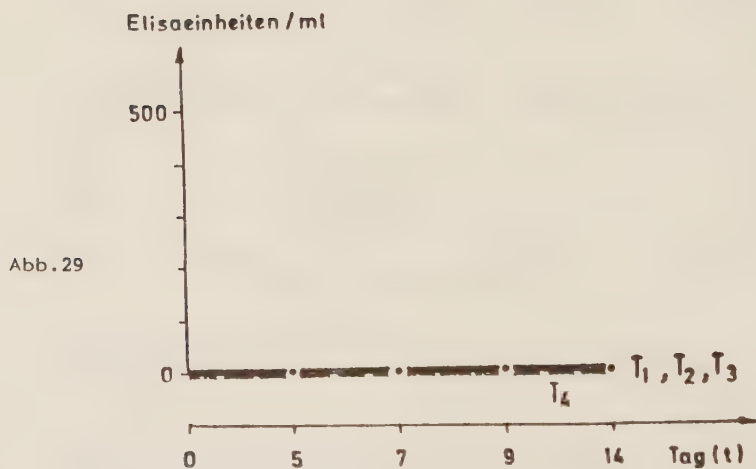
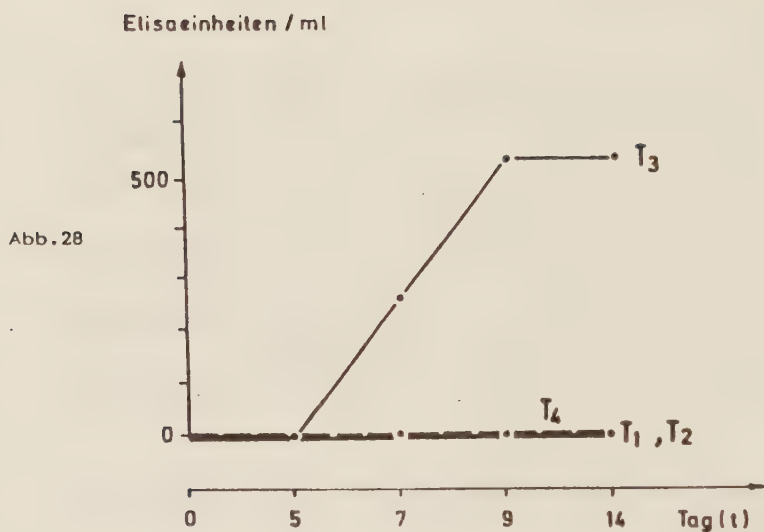


Abb. 28: Anti-HSA-IgG-Titer von dysgammaglobulinämischen UM-B 19-Hühnern nach Immunisierung mit HSA und Gabe von 0,1 ml Influenza in alkoholischer Lösung (T₁, T₂, T₃) (—) und Alkohol (T₄) (----).

Abb. 29: Anti-HSA-IgG-Titer von dysgammaglobulinämischen UM-B 19-Hühnern nach Immunisierung mit HSA und Gabe von 0,1 ml Echinacea (T₁, T₂, T₃) (—) und Alkohol (T₄) (----).

Abb. 30

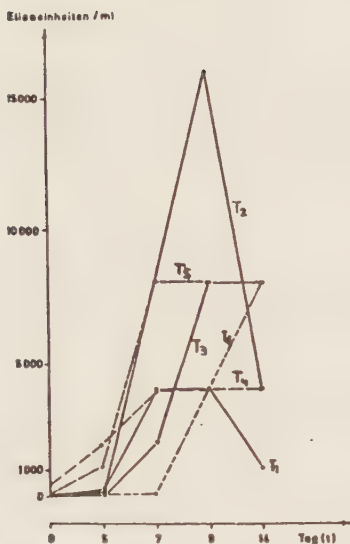


Abb. 31

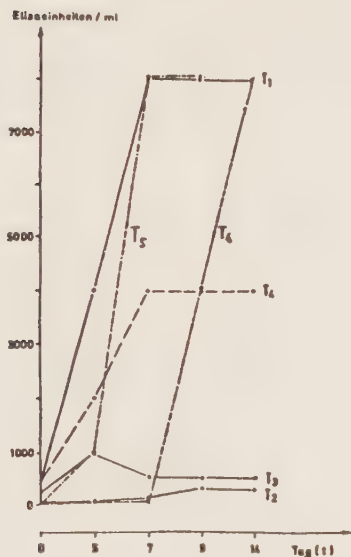


Abb.30: Anti-HSA-IgM-Titer von dygammaglobulinämischen UM-B 19-Hühnern nach Immunisierung mit HSA und Gabe von 0,4 ml Influenza in alkoholischer Lösung (T1, T2, T3) (—), Alkohol (T4) (----) und Wasser (T5, T6) (.....).

Abb.31: Anti-HSA-IgM-Titer von dysgammaglobulinämischen UM-B 19-Hühnern nach Immunisierung mit HSA und Gabe von 0,4 ml Echinacea in alkoholischer Lösung (T1, T2, T3) (—), Alkohol (T4) (----) und Wasser (T5, T6) (.....).

Abb. 32

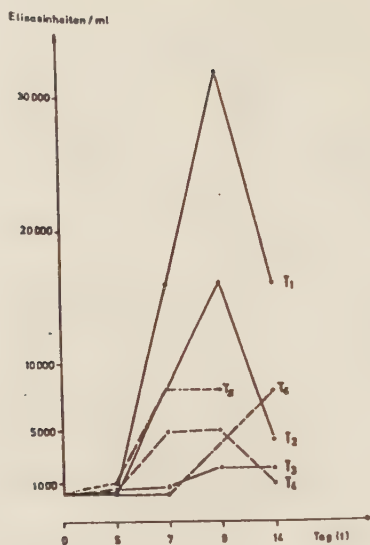


Abb. 33

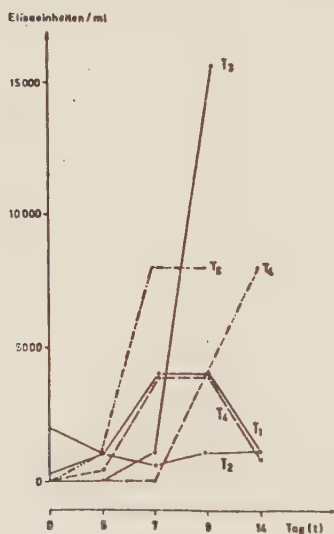


Abb. 32: Anti-HSA-IgM-Titer von dygammaglobulinämischen UM-B19-Hühnern nach Immunisierung mit HSA und Gabe von 0,1 ml Influenza in alkoholischer Lösung (T1, T2, T3) (—), Alkohol (T4) (-.-.-.-) und Wasser (T5, T6) (.....).

Abb. 33: Anti-HSA-IgM-Titer von dysgammaglobulinämischen UM-B19-Hühnern nach Immunisierung mit HSA und Gabe von 0,1 ml Echinacea (T1, T2, T3) (—), Alkohol (T4) (-.-.-.-) und Wasser (T5, T6) (.....).

Nach Verabreichung von Echinacea (Abb.33) erzielte T3 ähnliche Werte, wie sie bei T2 in Abb.32 nach Influegabe gemessen wurden. Die höchste Konzentration erreichte das Tier T3 am 9. Tag. Verglichen mit Alkohol bzw. Wasser waren bei den beiden anderen Tieren kein Einfluss von Echinacea auf die IgM-Synthese erkennbar.

4.3.2.5 Anti-HSA-Titer der IgA-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influe, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung), Alkohol bzw. Wasser in einer Dosierung von 0,4 ml/kg KG.

Wie in Abb.34 dargestellt, setzte im Vergleich zu Wasser nur das Tier T3 nach Influegabe mit einer Antikörperbildung ein, deren Höchstkonzentration am 9. Tag erreicht wurde. Bis zum 14. Tag fiel die Konzentration rasch wieder ab.

Verglichen mit Wasser bewirkte die Applikation von Echinacea (Abb.35) bei der gesamten Versuchstiergruppe keine Steigerung der Antikörpersynthese.

Nach Alkohol (Abb.34, 35) kam es ebenfalls zu keiner Antikörperbildung. Die Verläufe der beiden Tiere, die Wasser erhielten (Abb.34, 35), waren einander sehr ähnlich. Die Höchstkonzentrationen wurden an unterschiedlichen Tagen erreicht. Die dabei erzielten Ergebnisse entsprachen denen von T1 nach Echinacea- (Abb.35) bzw. T2 nach Influeapplikation (Abb.34).

4.3.2.6 Anti-HSA-Titer der IgA-Klasse nach Immunisierung mit HSA und Gabe von Influe, Echinacea (jeweils in alkoholischer Lösung) bzw. Alkohol in einer Dosierung von 0,1 ml/kg KG.

Nach Echinaceaapplikation (Abb.37) kam es im Vergleich zu Wasser zu keiner Stimulierbarkeit der Antikörpersynthese.

Influe (Abb.36) bewirkte lediglich bei einem Tier eine hohe IgA-Antikörperkonzentration, die bis zum 9. Tag rasch anstieg und dann ebenso schnell bis zum 14. Tag wieder abfiel. Der gemessene Höchstwert lag um die Hälfte über den bei Wasser erreichten Werten.

Alkohol (Abb.36, 37) erbrachte im Vergleich zu Wasser keine Veränderung der IgA-Antikörperkonzentration.

Abb. 34

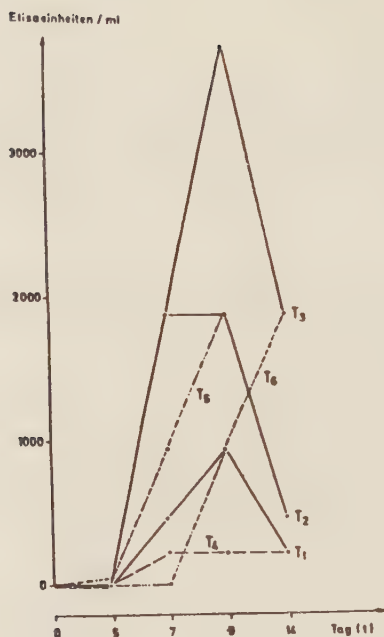


Abb. 35

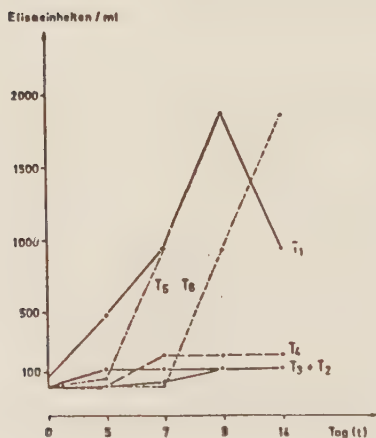


Abb.34: Anti-HSA-IgA-Titer von dysgammaglobulinämischen UM-B19-Hühnern nach Immunisierung mit HSA und Gabe von 0,4 ml Influenza in alkoholischer Lösung (T1, T2, T3) (—), Alkohol (T4) (---) und Wasser (T5, T6) (-.-.-.-.-).

Abb.35: Anti-HSA-IgA-Titer von dysgammaglobulinämischen UM-B19-Hühnern nach Immunisierung mit HSA und Gabe von 0,4 ml Echinacea (T1, T2, T3) (—), Alkohol (T4) (---) und Wasser (T5, T6) (-.-.-.-.-).

Abb. 36

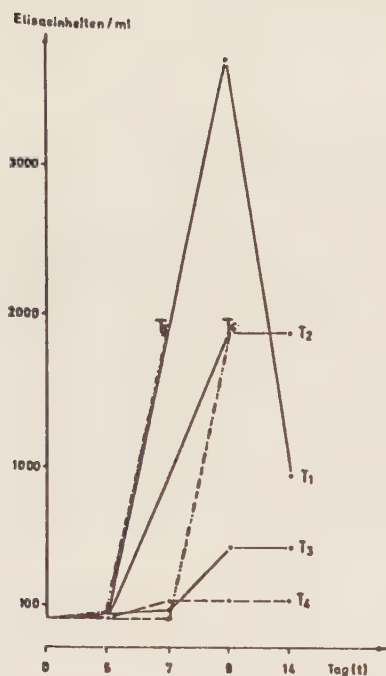


Abb. 37

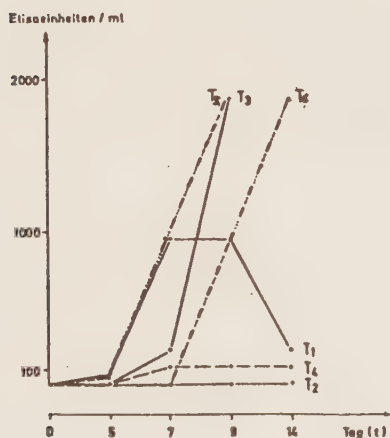


Abb.36: Anti-HSA-IgA-Titer von dysgammaglobulinämischen UM-B19-Hühnern nach Immunisierung mit HSA und Gabe von 0,1 ml Influx in alkoholischer Lösung (T1, T2, T3) (—), Alkohol (T4) (---) und Wasser (T5, T6) (----).

Abb.37: Anti-HSA-IgA-Titer von dysgammaglobulinämischen UM-B19-Hühnern nach Immunisierung mit HSA und Gabe von 0,1 ml Echinacea (T1, T2, T3) (—), Alkohol (T4) (---) und Wasser (T5, T6) (----).

4.4 Verabreichung der Präparate an chirurgisch bursektomierte Hühner.

Die bursektomierten Hühner, bei denen durch einen chirurgischen Eingriff eine Hypo- oder Agammaglobulinämie herbeigeführt wurde, liessen weder durch die eingesetzten Präparate Influenza und Echinacea noch durch Alkohol bzw. Wasser einen Einfluss sowohl auf die Immunglobulinkonzentrationen im Serum als auch auf die IgG-, IgM- und IgA-Antikörperbildung erkennen.

5. DISKUSSION

Immunogenität hängt nicht nur von der Art des Antigens, sondern auch von den Eigenschaften des antwortenden Organismus ab sowie davon, in welcher Form und mit welchen Begleitstoffen (z.B. Adjuvantien oder Modulatoren) das Antigen dem Antikörperproduzenten zugeführt wird. Die Immunisierung kann durch natürlichen Kontakt mit Immunogenen, aber auch durch eine kontrollierte Immunisierung künstlich herbeigeführt werden. Für das Ausmass einer darauffolgenden Immunantwort spielen Herkunft und Aufarbeitung des Antigens eine Rolle, ebenso die Form, in der das Antigen verabreicht wird. Gleichfalls entscheidend ist der Weg des Immunogens in den Körper, die Antigen-Dosis und die genetischen Eigenschaften des antwortenden Tieres.

Ausschlaggebend sind ebenfalls die Nachweismethoden. Ob nach einer Immunisierung Antikörper gefunden werden, kann durchaus von der Art der Nachweismethode und selbstverständlich von deren Empfindlichkeit abhängen.

5.1 Bestimmungsmethoden

Rocket-Immunelektrophorese:

Zur Quantifizierung der verschiedenen Serumimmunglobuline wurde in der vorliegenden Arbeit die Rocket-Immunelektrophorese (nach Laurell, 1965) herangezogen. Diese Methode weist eine hohe Empfindlichkeit auf; die untere Nachweisgrenze beträgt 0,02 mg pro ml Serum. Von Vorteil ist, dass sich diese Methode routinemässig schnell und gut durchführen lässt und die Ergebnisse bereits nach ca. 20 Stunden ausgewertet werden können.

Elisa:

Die Methoden zum Nachweis von Antikörpern unterscheiden sich bei Messung der Antikörperaktivität erheblich in ihrer Empfindlichkeit. Hier übertrifft der Elisa-Test mit 0,001 µg/ml deutlich die Hämagglutination (0,003 - 0,006 µg/ml) und die Bakterienagglutination (0,01 µg/ml; Humphrey and White, 1963; Gill, 1970). Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass es mit dem Elisa-Test im einfachen Testansatz möglich ist, eine isotypspezifische Bestimmung des Anti-HSA-Antikörpers durchzuführen. Die beiden anderen Methoden dagegen erfordern ein zusätzliches Untersuchungsverfahren, bei dem durch Bestimmung mercaptoäthanol-resistenter Antikörper auf IgG und IgA bzw. mercaptoäthanol-sensitiver Antikörper auf IgM geschlossen werden kann.

Die Problematik dieser Differenzierung wurde von Uebel (1984) in der hiesigen Arbeitsgruppe untersucht.

5.2 Herkunft und Aufarbeitung der immunstimulierenden Substanzen

Echinacea, Hauptbestandteil von Influecx, wird eine primäre immunstimulierende Wirkung zugeschrieben. Für die verschiedenen Untersuchungen fanden Preßsäfte, aber auch methanolische, in Einzelfällen wässrige Gesamt-Extrakte der oberirdischen Pflanzenteile und Wurzeln Verwendung.

Aus der Literatur ist bekannt, dass der methanolische Extrakt antivirale Eigenschaft besitzt (Orinda et al., 1973; Wacker und Hilbig, 1978). Proksch (1982) wies für *Echinacea purpurea* nach, dass der wässrige Gesamtextrakt in den Testsystemen Carbon-Clearance-Test, Lymphozyten-Transformations-Test und Infektions-Belastungs-Test gegenüber dem methanolischen Gesamtextrakt bessere Ergebnisse erzielt hatte. Dabei zeigte sich, dass der methanolische Gesamtextrakt schon in geringen Konzentrationen (2,5 mg/ml) toxisch wirkte. Es ist deshalb anzunehmen, dass das eigentliche Wirkungsprinzip der wässrigen Fraktion entstammt. Bei den von Proksch beschriebenen Echinaceabestandteilen, Polysaccharid I und II, handelt es sich um ein saures Heteroxylan mit niederem Molekulargewicht (35 000 d) und um ein saures Arabinorhamnogalaktan mit hohem Molekulargewicht (450 000 d).

Da *Echinacea purpurea* und *Echinacea angustifolia* über die gleichen Inhaltsstoffe verfügen (Heeger, 1956; Bohlmann, 1966), ist es sehr wahrscheinlich, dass sich beide Pflanzen in ihrer Wirkung gleich verhalten.

Zur Erstellung dieser Arbeit wurden Untersuchungen am Haushuhn sowohl mit dem Kombinationspräparat Influecx als auch mit dem darin enthaltenen Bestandteil Echinacea als Monopräparat durchgeführt. Das Lösungsmittel ist 35 %iger Alkohol.

Da hohe Dosen von Alkohol immunsuppressiv wirken sollen, jedoch mässige Dosen im Sinne eines Umkehreffektes die Phagozytoseaktivität zu steigern vermögen (Hänsel, 1985), waren Untersuchungen mit Alkohol und Influecx in wässriger Lösung als Vergleichssubstanzen notwendig.

5.3 Verabreichungsform der pflanzlichen Präparate

Zu den häufig verwendeten Applikationsformen gehören intradermale, subcutane, intramuskuläre und intraperitoneale Injektionen. Ebenso ist eine orale Aufnahme des Präparates möglich.

Die Injektion von Antigenen führt im allgemeinen in den vasculären Räumen zur Bildung humoraler Antikörper, während es bei einer lokal begrenzten Ablagerung des Antigens im peripheren lymphoiden Gewebe zu einer zellulären Sensibilisierung kommt (Sell, 1977).

Für die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen wurde die orale Verabreichung der Pflanzenpräparate gewählt, nicht zuletzt deshalb, weil die Applikation des Präparates InflueX beim Menschen meist auf diesem Wege erfolgt. Das Antigen HSA wurde intramuskulär injiziert.

5.4 Dosierung der immunstimulierenden Präparate

Bisher sind in den meisten Fällen die Dosisempfehlungen der immunstimulierenden Präparate nicht experimentell belegt (persönliche Mitteilung, Okpanyi, 1983; Fa. Steigerwald). Da aber die Dosis die Intensität des pharmakologischen und manchmal spezifischen Effektes bestimmen soll (Ritschel, 1960), ist die Immunstimulation oder -suppression eines solchen Präparates nicht immer vorhersehbar.

Die empfohlene Tagesdosis für den Menschen liegt bei 60 - 100 Tropfen (2,5 - 8 ml) InflueX. Husmann und Graevenitz (1960) schlugen in Versuchen mit InflueX, Acalon und Esberitox für die Maus im Einzel- und Dauerversuch die 100-fache der in der Humanmedizin üblichen Dosis vor. Aus den in Vorversuchen zu dieser Arbeit ermittelten Dosen erwiesen sich die Dosierungen 0,1 und 0,4 ml/kg KG als die verträglichsten und wirksamsten.

5.5 Besprechung der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit sollte geklärt werden, inwieweit die pflanzlichen Arzneimittel InflueX und Echinacea bei immunisierten Hühnern einen Einfluss auf die Stimulation der Synthese von Immunglobulinen und Antikörpern besitzen. Weiterhin sollte untersucht werden, ob durch die pflanzlichen Präparate eine Restaurierung der IgG-Synthese bei dysgammaglobulinämischen Hühnern der UM-B19-Linie möglich ist.

Nach vorhergehender Immunisierung mit dem Antigen HSA wurden die durch Gabe von InflueX und Echinacea erzielten Resultate mit denen der Vergleichssubstanzen Alkohol (35% w/v) und Wasser in Beziehung gesetzt.

Die Ergebnisse der immunologisch intakten Versuchstiere lassen sich folgendermassen zusammenfassen:

Nach Applikation von InflueX kam es zu einem auffallenden Anstieg der Serum-IgG-Konzentrationen. In höherer Dosierung (0,4 ml/kg KG) zeigte InflueX einen stärkeren Zuwachs der IgG-Syntheserate als Echinacea (siehe Abb.4), bei der Dosierung von 0,1 ml/kg KG lagen umgekehrte Verhältnisse vor (siehe Abb.5).

Alle Probanden reagierten auf die Verabreichung von Influecx mit einer deutlichen Stimulation der IgG-Antikörperproduktion (siehe Abb.10 + 19), wobei sich die Immunantwort bei niedriger Dosierung (siehe Abb.11) noch steigern liess.

Echinacea dagegen hatte im Vergleich zu Alkohol keinen stimulierenden Effekt.

Hinsichtlich der Serum-IgM-Konzentrationen war durch die wässrige Lösung von Influecx eine eindeutige Stimulation der IgM-Synthese nachweisbar ($p = 0,0012$, siehe Abb.17). Bei den alkoholischen Lösungen von Influecx und Echinacea zeichneten sich jedoch nur tendentielle Erhöhungen der Serumkonzentrationen ab.

Während die Echinaceaapplikation auch bei den IgM-Antikörpern keine Veränderung brachte, hatte Influecx in wässriger wie auch in alkoholischer Lösung bei der Dosierung von 0,4 ml/kg KG hohe IgM-Antikörpertiter zur Folge (siehe Abb.12).

Einen statistisch signifikanten Serum-IgA-Anstieg ($p = 0,01$, siehe Abb.8 + 9) wiesen die Probanden nach Verabreichung beider pflanzlicher Arzneimittel auf. Eine Ausnahme bildeten die Versuchstiere, die die höhere Dosierung der alkoholischen Lösung von Influecx erhielten.

Bei den IgA-Antikörpern brachte im Vergleich zu Alkohol und HSA nur die niedere Dosierung der alkoholischen Lösung von Influecx eine starke Zunahme des Antikörpertiters.

Zusätzlich zu den Untersuchungen an immunologisch intakten Hühnern wurden die Immunstimulanzien orientierend an zur Verfügung stehende dysgammaglobulinämische UM-B19-Hühner verabreicht.

Die an kleinen Tiergruppen erhobenen Befunde zeigen, dass die Verabreichung von Influecx bzw. Echinacea eine deutliche Veränderung der Serum-IgG-Konzentrationen (siehe Abb.22 + 23) sowie der Einsatz von Influecx eine schnell einsetzende IgG-Antikörpersynthese (siehe Abb.26 + 28) zur Folge hat.

Ähnlich den Kontrolltieren liess die Echinaceaapplikation auch bei den dysgammaglobulinämischen Hühnern keine Wirkung auf die Stimulation der IgG-Antikörperproduktion erkennen.

Obwohl bekannt ist, dass minimale Mengen an IgG zu einer weitgehenden Unterdrückung überhöhter IgM-Spiegel führen (Subba Rao et al., 1978), war auffallend, dass das entstandene IgG ohne Einfluss auf die Serum-IgM-Synthese blieb.

Die IgM-Antikörper zeigten sowohl nach HSA als auch nach InflueX bzw. Echinacea in sehr vielen Fällen dieselbe Aktivität. Lediglich nach InflueXapplikation ragte ein Tier mit einer deutlichen Stimulation der BM-Zellen.

Nennenswerte Steigerungen der Serum-IgA-Spiegel wurden nach Gabe der pflanzlichen Arzneimittel nicht gemessen, meist blieben die IgA-Spiegel sogar konstant.

In Bezug zum Lösungsmittel Alkohol und Antigen HSA war nur bei zwei Versuchstieren nach Verabreichung von InflueX die IgA-Antikörpersynthese stimulierbar.

Die bursektomierten Hühner, bei denen der chirurgische Eingriff zu einer Hypo- bzw. Agammaglobulinämie geführt hat, liessen nach Verabreichung beider pflanzlichen Präparate keine Induzierung von Antikörpern erkennen.

Bei den Serum-Ig-Spiegeln zeichneten sich ebenfalls kaum messbare Werte ab.

Sucht man in der Literatur nach vergleichbaren Ergebnissen, treten erhebliche Schwierigkeiten auf. Sie liegen in den Präparatekompositionen, Tierarten und Testverfahren wie auch in der Applikationsform, denn oftmals wird nicht darauf aufmerksam gemacht, dass die angegebenen Wirkungen nur für die parenterale, nicht aber für die orale Applikation nachgewiesen wurden.

So berichten Puigdollers et al. (1980) nach Verabreichung von Bakterienlysat beim Menschen von einem hohen Zuwachs der Serum-IgG- und IgM-Spiegel. Im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit wurden nur sehr geringe Veränderungen der Serum-IgA-Spiegel festgestellt. Parés et al. (1974/75) kamen bereits zu ähnlichen Ergebnissen bei Mäusen.

Immunstimulierende Effekte oral verabreichter pflanzlicher Präparate am Haushuhn bzw. an immundefizienten Probanden aller Art wurden bisher nicht beschrieben.

5.6 InflueX bzw. Echinacea-Urtinktur in ihrer Wirkung als Immunstimulanzien

Insgesamt betrachtet lässt sich sagen, dass InflueX hinsichtlich der immunologisch intakten HNL-Tiere einen deutlichen Einfluss auf die Titerhöhe aller drei Antikörperklassen aufweist. Auffallend ist der im Vergleich zum IgG raschere Anstieg des IgM-Antikörpertiters bei allen Kontrolltieren. Für die Immunantwort werden im allgemeinen zuerst Antikörper der IgM-Klasse gebildet, die nach einiger Zeit oder bei erneuter Immunisierung in Antikörper der IgG- oder IgA-Klasse übergehen können (Hiltschmann, 1982). Somit gehören frühe Antikörper gewöhnlich der IgM-, späte Antikörper der IgG-Klasse an (Uhr, 1969).

Die Möglichkeit, Alkohol könne eventuell der eigentliche Induktor sein (Graevenitz und Husmann, 1960), lässt sich aufgrund der erzielten Ergebnisse ausschliessen.

Untersuchungen mit Freund's Complete Adjuvans (FCA) (Tam and Benedict, 1975) ergaben, dass der Wirkungsmechanismus von FCA auf die IgG-Konzentrationen überwiegend in einer Stimulation von T-Helfer-Zellfunktionen liegt. Vergleichbares könnte auch für das Präparat InflueX zutreffen.

Dass das Immunstimulanz InflueX in der Lage ist, auch in die Entwicklungsabläufe dysgammaglobulinämischer UM-B19-Hühner einzugreifen, zeigen die Ergebnisse.

Altmann (1984) postulierte aufgrund eines ähnlichen Versuches mit LPS, dass bei dysgammaglobulinämischen Hühnern sehr wenige BG-Zellen vorhanden sein könnten, die durch LPS nur zu einer vermehrten Produktion angeregt werden. Die Probanden, denen lediglich HSA ohne LPS verabreicht wurde, liessen keine Anti-HSA-spezifischen Antikörper der IgG-Klasse erkennen.

Vergleichbare Resultate traten in der vorliegenden Arbeit bei den Tieren auf, denen nur HSA injiziert wurde.

Wie LPS scheint auch InflueX B-Zellen stimulieren zu können, die sonst nicht reaktiv sind.

Die im Verhältnis zu den Kontrollhühnern hohen IgM-Antikörpertiter – es wurden bereits sehr hohe Ausgangswerte gemessen – lassen sich mit einer mangelnden negativen feed-back-Hemmung durch IgG-Antikörper erklären (Cooper et al., 1966).

Die Antikörpertiter der immunologisch intakten Tiere zeigten nach Verabreichung von Echinacea-Urtinktur keine Veränderung. Damit würde sich die Meinung von Hänsel (1985) bestätigen, dass pflanzliche Polysaccharide, zu denen die aus Echinacea gewonnenen Extrakte gehören, zwar immunogene Entzündungsherde auslösen können, aber oral gegeben, reaktionslos bleiben.

Im Tierversuch jedenfalls soll sich durch die i.v.-Gabe von Echinacin (Preßsaft aus *Echinacea purpurea*) die Bakterizidie in derselben Masse steigert lassen wie durch LPS (Hänsel, 1985).

Aus den vorliegenden Ergebnissen kann nicht auf die in InflueX vorhandenen Einzelsubstanzen, die für die eigentlichen Reaktionen verantwortlich sind, geschlossen werden.

Eine Möglichkeit ist, dass das Wirkungsprinzip nicht auf einer einzigen Substanz, sondern auf der Gesamtheit aller in InflueX vorhandenen Stoffe (= Synergismus) beruht. Daher wären dieselben Versuchsabläufe mit den anderen in InflueX vorhandenen Substanzen angezeigt.

Bei den bursektomierten Hühnern waren die pflanzlichen Arzneimittel im Gegensatz zu Levamisol (Storandt, 1984) ohne Einfluss auf das humorale Immunsystem.

In der Bursa fabricii läuft normalerweise eine geordnete, antigen unabhängige Entwicklung der B-Zellklone mit vorgegebener Spezifität in bestimmter Reihenfolge ab; die Klone verlassen nach Ausdifferenzierung die Bursa und besiedeln die Peripherie (Lydyard, 1976; Hirota, 1975). Bei dieser Versuchstiergruppe scheinen die entsprechenden Klone mit der Bursektomie vollständig entfernt worden zu sein und somit die Fähigkeit, Antikörper gegen HSA zu bilden.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde die Beeinflussung des Immunsystems immunologisch intakter HNL-Hühner durch pflanzliche Arzneimittel untersucht.

Zur Verfügung standen der Extrakt aus *Echinacea angustifolia* sowie das Kombinationspräparat Influx, das neben anderen Wirkstoffen *Echinacea* als Hauptbestandteil enthält. Influx lag sowohl in alkoholischer als auch in wässriger Lösung vor, *Echinacea*-Urtinktur nur in alkoholischer Lösung.

In den Versuch mit einbezogen wurden dysgammaglobulinämische Hühner der UM-B19-Linie und chirurgisch bursektomierte Tiere, die einen der Dysgammaglobulinämie vergleichbaren Defekt - bekannter Ursache - aufwiesen.

Die pflanzlichen Arzneimittel wurden in zwei verschiedenen Dosierungen oral verabreicht, kombiniert mit der intramuskulären Injektion des T-zellabhängigen Antigens HSA.

Entsprechende Tiergruppen erhielten vergleichend Alkohol bzw. Wasser, ebenfalls in Kombination mit HSA.

Bestimmt wurden die Serum-Ig-Konzentrationen und die Anti-HSA-Titer der Isotypen IgG, IgM und IgA.

Die Verabreichung des pflanzlichen Arzneimittels Influx führte bei den immunologisch intakten Hühnern zu einer starken Zunahme der Serum-Ig-Konzentrationen und in allen Fällen zu einer hohen Steigerung der drei Anti-HSA-spezifischen Antikörperklassen.

Über die Hälfte der mit Influx in alkoholischer Lösung bzw. *Echinacea*-Urtinktur behandelten dysgammaglobulinämischen Hühner liessen einen vorübergehenden bzw. kontinuierlichen Serum-IgG-Anstieg erkennen, wobei die Applikation von Influx in der Mehrzahl der Fälle ebenfalls eine Steigerung der IgG-Antikörper zur Folge hatte. Die beiden anderen Serum-Ig- bzw. Antikörperklassen IgM und IgA zeigten sich durch die pflanzlichen Immunstimulanzien wenig beeinflussbar.

Bei den behandelten chirurgisch bursektomierten Hühnern konnten über den Zeitraum von 14 Tagen weder Reaktionen der Serum-Ig-Spiegel noch Anti-HSA-spezifischer Antikörper festgestellt werden.

7. SUMMARY

EFFECTS OF INFLUEX^R AND ECHINACEA ANGUSTIFOLIA EXTRACT TO HUMORAL IMMUNOREACTIONS

In this thesis, the effects of vegetal medicaments to the immune system of immunologically intact HNL chickens have been studied.

An extract of echinacea angustifolia and the combination product Influtex have been available. The latter contains echinacea as main substance and also some other active agents. Influtex was provided in both alcoholic and aqueous solutions. The primary echinacea solution was available as an alcoholic tincture only.

The experiment was also carried out with dysgammaglobulinemic chickens of the UM-B19 line and surgically bursectomized chickens suffering from some defect to be compared with dysgammaglobulinemia namely a defect the origin of which is known.

The vegetal medicaments got administered orally in two different dosages in combination with some intramuscular injections of the T-cell dependent HSA antigen.

For comparison, some corresponding groups of animals were given alcohol and water resp. also in combination with HSA. The serum-Ig concentration and the anti-HSA titers of the IgG, IgM and IgA isotypes were determined.

Administration of the vegetal medicament Influtex caused some considerable increase of the serum-Ig concentrations in the immunologically intact chickens and in every case some high expansion of the three anti-HSA-specific antibody classes.

More than half of the dysgammaglobulinemic chickens treated with Influtex in alcoholic solution and primary echinacea solution resp. showed some temporary and/or continuous increase of serum-IgG. Application of Influtex most times also caused some increase of the IgG antibodies. The other two classes of serum Ig and antibodies IgM and IgA resp. hardly got influenced by the vegetal stimulants of antibodies.

In as far as the treated, surgically bursectomized chickens are concerned, there could not be determined any reaction of the serum-Ig level nor any anti-HSA-specific antibodies over a period of 14 days.

TABELLARISCHER ANHANG

IgG-, IgM-, IgA-Konzentration (mg/ml) im Serum
von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
und Verabreichung von 0,4 ml Influenza in alkoholischer
Lösung

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 4)

1	0,98	3,785	5,525	5,525
2	2,715	2,55	3,33	3,845
3	3,02	1,015	6,07	5,305
4	0,86	0,82	1,535	1,85
5	2,135	1,25	2,505	2,38
6	3,795	6,38	9,87	7,61
$\bar{x}$	2,25	2,633	4,8058	4,419
SD	1,06	1,96	2,76	1,969

IgM (Abb. 6)

1	0,123	0,47	0,413	0,176
2	0,946	0,29	0,217	0,149
3	0,336	0,2976	0,416	0,144
4	0,31	0,13	0,65	0,31
5	1,24	2,38	2,57	1,27
$\bar{x}$	0,55	0,71	0,9	0,39
SD	0,4	0,84	0,8	0,4

IgA (Abb. 8)

1	0,2823	0,205	0,322	0,3431
2	0,2712	0,484	0,413	0,488
3	0,4813	0,8668	0,425	0,3976
4	0,113	0,108	0,116	0,1119
5	0,489	0,387	0,38	0,511
$\bar{x}$	0,3372	0,41	0,34	0,37
SD	0,13	0,26	0,1	0,13
P				0,01

IgG-, IgM-, IgA-Konzentration (mg/ml) im Serum
von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
und Verabreichung von 0,1 ml Influenza in alkoholischer
Lösung

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 5)

1	2,31	2,15	3,67	1,93
2	2,41	4,67	5,41	4,9
3	2,1	4,065	5,72	5,54
4	4,45	4,12	4,485	5,195
5	2,845	2,235	5,07	13,75
6	3,42	4,845	7,785	5,88
$\bar{x}$	2,91	3,68	5,37	6,19
SD	0,8	1,0	1,3	3,6

IgM (Abb. 7)

1	0,55	0,165	1,3	0,67
2	0,597	2,795	2,515	1,915
3	0,6035	2,885	2,29	1,985
4	0,32	0,685	0,917	0,689
5	0,8955	1,355	1,2	0,88
6	1,035	2,175	1,73	1,015
$\bar{x}$	0,667	1,676	1,658	1,19
SD	0,23	1,02	0,50	0,54

IgA (Abb. 9)

1	0,118	0,2271	0,2706	0,2535
2	0,3096	0,3834	0,2899	0,421
3	0,168	0,3535	0,2625	0,2665
4	0,1087	0,2658	0,2694	0,2103
5	0,5861	0,5	0,3877	0,5365
6	0,0779	0,1329	0,1402	0,1147
$\bar{x}$	0,228	0,31	0,27	0,3
SD	0,17	0,11	0,07	0,13
P				0,01

IgG-, IgM-, IgA-Konzentration (mg/ml) im Serum
von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
und Verabreichung von 0,4 ml Echinacea in alkoholischer
Lösung

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 4)

1	3,63	4,35	2,89	1,355
2	2,12	3,915	6,525	6,815
3	0,89	1,945	3,735	2,865
4	1,405	2,41	4,005	3,61
5	1,62	2,83	4,01	3,58
6	7,03	4,505	5,12	5,12
$\bar{x}$	2,782	3,244	4,38	3,89
SD	2,0	1,0	1,16	1,7

IgM (Abb. 6)

1	0,635	2,44	1,86	1,07
2	0,456	1,48	0,985	0,48
3	1,05	2,515	1,915	1,325
4	1,108	2,56	2,235	1,835
5	1,295	2,985	2,445	1,53
6	1,585	2,2	2,43	2,045
$\bar{x}$	1,021	2,36	1,97	1,38
SD	0,38	0,45	0,49	0,51

IgA (Abb. 8)

1	0,1911	0,2047	0,2224	0,1881
2	0,413	0,4724	0,3678	0,3591
3	0,2927	0,5465	0,4239	0,6507
4	0,218	0,4245	0,362	0,3803
5	0,1062	0,2085	0,1685	0,181
6	0,2778	1,043	0,991	0,6905
$\bar{x}$	0,2498	0,4832	0,4226	0,4082
SD	0,09	0,28	0,26	0,2

IgG-, IgM-, IgA-Konzentration (mg/ml) im Serum
von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
und Verabreichung von 0,1 ml Echinacea in alkoholischer
Lösung

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 5)

1	0,58	1,725	3,81	3,07
2	0,53	0,51	1,42	1,41
3	0,68	0,37	1,7	1,41
4	1,7	2,64	3,83	3,04
5	2,73	4,47	5,57	5,39
6	1,89	2,86	4,02	3,79
$\bar{x}$	1,35	2,09	3,39	3,017
SD	0,81	1,4	1,43	1,3

IgM (Abb. 7)

1	0,6455	2,03	1,77	1,18
2	0,475	1,5	1,32	0,613
3	0,32	1,425	1,55	0,97
4	1,395	2,77	2,56	1,445
5	0,555	2,2	1,225	0,88
6	0,465	1,425	0,935	0,56
$\bar{x}$	0,6426	1,89	1,56	0,94
SD	0,35	0,4	0,5	0,3

IgA (Abb. 9)

1	0,251	0,336	0,287	0,2969
2	0,1905	0,1947	0,2314	0,2552
3	0,1525	0,1344	0,1627	0,1525
4	0,0192	0,024	0,024	0,0376
5	0,4	0,6208	0,5488	0,544
6	0,168	0,1952	0,2312	0,2896
$\bar{x}$	0,197	0,25	0,24	0,26
SD	0,114	0,18	0,15	0,15

IgG-, IgM-, IgA-Konzentration (mg/ml) im Serum
von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
und Verabreichung von 0,4 ml Alkohol

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 4)

1	2,21	2,69	4,14	3,54
2	3,66	5,58	6,06	5,82
3	0,16	0,16	0,1	0,34
4	2,58	3,01	3,86	4,4
5	4,8	5,44	5,81	5,96
6	1,71	1,96	3,51	4,22
$\bar{x}$	2,89	3,49	4,467	4,51
SD	1,42	1,81	1,96	1,89

IgM (Abb. 6)

1	0,1	0,83	0,33	0,5
2	0,16	1,2	1,08	0,75
3	1,0	2,179	1,78	1,32
4	0,154	0,32	0,65	0,47
5	0,576	1,6	1,6	0,774
6	0,691	2,87	2,09	1,51
7	0,824	1,088	0,768	0,416
8	0,76	0,94	0,71	0,4
$\bar{x}$	0,533	1,27	1,12	0,76
SD	0,32	0,74	0,58	0,39

IgA (Abb. 8)

1	0,14	0,17	0,14	0,16
2	0,15	0,209	0,22	0,23
3	0,13	0,18	0,15	0,14
4	0,081	0,13	0,11	0,1
5	0,171	0,189	0,21	0,185
6	0,238	0,252	0,249	0,231
7	0,22	0,378	0,33	0,285
8	0,22	0,37	0,33	0,28
$\bar{x}$	0,168	0,234	0,217	0,201
SD	0,05	0,08	0,07	0,06

IgG-, IgM-, IgA-Konzentration (mg/ml) im Serum
von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
und Verabreichung von 0,1 ml Alkohol

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 5)

1	1,24	1,56	4,21	4,21
2	2,92	3,41	5,24	4,85
3	2,55	4,44	5,35	4,96
4	2,58	3,97	5,01	4,99
5	3,69	4,9	5,56	5,24
6	2,208	3,648	5,07	5,02
$\bar{x}$	2,39	3,65	5,07	4,8
SD	0,79	1,83	1,04	0,94

IgM (Abb. 7)

1	0,684	1,76	1,352	0,888
2	0,444	1,9	1,588	1,043
3	0,996	2,32	1,376	0,8944
4	0,636	2,14	1,64	0,887
5	1,02	2,66	2,33	1,43
6	0,447	1,36	1,46	1,13
$\bar{x}$	0,705	2,02	1,6	1,04
SD	0,23	0,41	0,33	0,19

IgA (Abb. 9)

1	0,355	0,323	0,323	0,286
2	0,178	0,194	0,194	0,171
3	0,09	0,116	0,116	0,124
4	0,442	0,396	0,134	0,283
5	0,388	0,408	0,352	0,324
6	0,564	0,333	0,483	0,367
7	0,218	0,171	0,157	0,18
8	0,344	0,408	0,3856	0,5072
9	0,22	0,488	0,488	0,34
$\bar{x}$	0,31	0,315	0,28	0,28
SD	0,13	0,11	0,12	0,11

IgG-, IgM-, IgA-Konzentration (mg/ml) im Serum
von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
und Verabreichung von 0,4 ml Influvax in wässriger
Lösung

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 16)

1	0,669	1,38	3,93	3,34
2	2,2	2,33	3,3	3,51
3	2,9	3,08	4,25	4,95
4	2,2	2,2	3,6	3,37
5	1,57	3,01	4,27	4,15
6	2,5	3,76	4,76	4,23
$\bar{x}$	2,0	2,62	4,01	3,92
SD	0,71	0,76	0,47	0,57

IgM (Abb. 17)

1	1,602	2,68	2,41	1,466
2	1,2	3,28	2,246	1,67
3	0,45	1,82	1,23	0,84
4	0,579	1,74	1,32	0,89
5	0,62	2,16	1,53	0,89
$\bar{x}$	0,89	2,33	1,75	1,15
SD	0,43	0,57	0,48	0,34
p	0,003		0,0012	

IgA (Abb. 18)

1	0,21	0,18	0,17	0,16
2	0,13	0,18	0,126	0,14
3	0,13	0,225	0,216	0,156
4	0,27	0,4	0,3	0,3
5	0,11	0,15	0,13	0,12
$\bar{x}$	0,17	0,227	0,188	0,175
SD	0,09	0,08	0,06	0,06

IgG-, IgM-, IgA-Konzentration (mg/ml) im Serum
von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
und Verabreichung von 0,4 ml H₂O

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 16)

1	2,33	4,29	4,66	4,03
2	2,37	4,29	5,48	5,23
3	3,96	4,72	5,34	5,24
4	1,95	2,856	3,61	3,44
5	3,856	2,89	4,09	5,58
6	1,88	1,73	1,72	3,08
$\bar{x}$	2,72	3,46	4,15	4,43
SD	0,87	1,0	1,26	0,96

IgM (Abb. 17)

1	0,29	0,47	0,43	0,3
2	0,55	0,69	0,6	0,58
3	0,236	0,76	0,628	0,528
4	0,272	0,528	0,448	0,4
$\bar{x}$	0,337	0,612	0,525	0,452
SD	0,124	0,117	0,082	0,109

IgA (Abb. 18)

1	0,54	0,437	0,485	0,459
2	0,702	0,41	0,41	0,53
3	0,517	0,32	0,47	0,43
4	0,48	0,4	0,42	0,4
5	0,334	0,656	0,552	0,614
6	0,25	0,237	0,341	0,453
7	0,19	0,245	0,226	0,218
$\bar{x}$	0,43	0,385	0,41	0,443
SD	0,16	0,13	0,09	0,11

IgG-, IgM-, IgA-Anti-HSA-Titer (Elisaeinheiten/ml)
 von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
 und Verabreichung von 0,4 ml Influenza in alkoholischer
 Lösung

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 10)

1	1,05	67,2	1075,2	1075,2
2	4,2	33,6	1075,2	2150,4
3	1,05	2,1	860,76	8601,6
4	0	2,1	67,2	67,2
5	1,05	4,2	134,4	537,2
6	2,1	67,2	17203,2	8601,6
$\bar{x}$	1,57	29,4	3402,6	3505,6
SD	132	28,8	6775	3658

IgM (Abb. 12)

1	0,98	125,4	250,8	62,7
2	1,96	250,8	501,7	250,8
3	1,96	250,8	2007,4	250,8
4	0,98	3,92	250,8	125,4
5	0,98	0,98	2007,04	1003,52
6	3,92	250,8	1003,5	125,4
$\bar{x}$	1,79	147,1	1003,5	303,1
SD	1,04	111	752	320

IgA (Abb. 14)

1	0,46	67,36	29,44	14,72
2	1,84	14,72	58,88	29,44
3	0,46	0,23	117,76	58,88
4	0,92	0,92	29,44	14,72
5	0,46	0,46	58,88	29,44
6	0,46	3,68	58,88	14,72
$\bar{x}$	0,76	14,56	58,88	26,98
SD	0,5	24,14	29,3	1570

IgG-, IgM-, IgA-Anti-HSA-Titer (Elisaeinheiten/ml)
 von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
 und Verabreichung von 0,1 ml Influx in alkoholischer
 Lösung

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 11)

1	1,05	16,8	1075,2	537,6
2	2,1	33,6	2150,4	2150,4
3	1,05	16,8	537,6	268,8
4	2,1	4,2	537,6	1075,2
5	4,2	16,8	4300,8	4300,8
6	2,1	134,4	17203,2	2150,4
$\bar{x}$	2,1	37,1	4300,8	1747,2
SD	1,0	44	6210	1350

IgM (Abb. 13)

1	1,96	125,4	250,8	62,7
2	0,98	62,7	501,7	125,4
3	0,98	62,7	250,8	62,7
4	0,98	3,92	2007,04	501,7
5	1,96	31,36	501,7	125,4
6	1,96	250,8	501,7	125,4
$\bar{x}$	1,47	89,48	668,9	167,21
SD	0,48	81	608	152

IgA (Abb. 15)

1	3,68	7,36	58,88	29,44
2	3,68	7,36	58,88	29,44
3	0,92	3,68	471,04	117,76
4	1,84	29,44	117,76	29,44
5	3,68	29,44	58,88	29,44
6	0,92	14,72	14,72	14,72
$\bar{x}$	2,45	15,33	130,0	41,7
SD	1,26	10,4	155	34,4

IgG-, IgM-, IgA-Anti-HSA-Titer (Elisaeinheiten/ml)
 von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
 und Verabreichung von 0,4 ml Echinacea in alkoholischer
 Lösung

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 10)

1	2,1	8,4	1075,2	1075,2
2	2,1	16,8	2150,2	2150,2
3	1,05	8,4	537,6	537,6
4	0	33,6	537,6	537,6
5	1,05	8,4	1075,2	2150,2
6	2,1	8,4	268,8	268,8
$\bar{x}$	1,4	14	940,7	1119,9
SD	0,78	9,2	65,4	68,4

IgM (Abb. 12)

1	1,96	7,84	62,7	31,36
2	1,96	62,72	250,8	125,4
3	7,84	125,4	250,8	125,4
4	7,84	250,8	125,4	62,7
5	3,92	62,7	501,7	250,8
6	7,84	125,4	250,8	62,7
$\bar{x}$	5,22	105,8	240,36	109,7
SD	2,6	76,5	137,4	71,8

IgA (Abb. 14)

1	0,46	0,92	7,36	7,36
2	0,46	3,68	29,44	29,44
3	0,92	7,36	14,72	14,72
4	0,92	7,36	14,72	7,36
5	0,92	14,72	117,76	117,76
6	3,68	58,88	117,76	117,76
$\bar{x}$	1,22	15,48	50,29	49,06
SD	1,1	19,8	48,1	49,1

IgG-, IgM-, IgA-Anti-HSA-Titer (Elisaeinheiten/ml)
 von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
 und Verabreichung von 0,1 ml Echinacea in
 alkoholischer Lösung

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 11)

1	1,05	33,6	268,8	537,6
2	2,1	16,8	4300,8	2150,4
3	2,1	8,4	1075,2	2150,4
4	4,2	16,8	537,6	537,6
5	4,2	67,2	1075,2	537,6
6	2,1	16,8	537,6	1075,2
$\bar{x}$	2,62	26,6	1299,2	1164,8
SD	1,1	19,6	1374	722

IgM (Abb. 13)

1	1,96	31,36	125,4	62,7
2	3,92	15,6	250,8	125,4
3	1,96	7,84	2007,04	501,76
4	7,84	62,7	501,7	125,4
5	3,92	62,7	62,7	15,68
6	1,96	125,4	250,8	62,7
$\bar{x}$	3,5	50,93	533,06	148,9
SD	2,0	39,3	673	162

IgA (Abb. 15)

1	0,23	3,68	7,36	3,68
2	0,46	3,68	29,44	14,72
3	0,46	7,36	29,44	14,72
4	0,46	0,92	58,88	29,44
5	0,92	3,68	58,88	29,44
6	0,46	14,72	58,88	29,44
$\bar{x}$	0,498	5,67	40,48	20,24
SD	0,2	4,4	19,8	9,9

IgG-, IgM-, IgA-Anti-HSA-Titer (Elisaeinheiten/ml)
 von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
 und Verabreichung von 0,4ml Alkohol

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 10)

1	0	0	4,2	16,8
2	1,05	67,2	1075,2	1075,2
3	0	4,2	1075,2	2150,4
4	1,05	33,6	2150,4	2150,4
5	2,1	67,2	2150,4	1075,2
6	2,1	16,8	537,6	1075,2
$\bar{x}$	1,05	31,5	1165,5	1257,2
SD	0,8	27,4	1370	1217

IgM (Abb. 12)

1	3,92	3,92	7,84	250,88
2	3,92	250,88	501,76	125,44
3	15,68	250,88	1003,52	501,76
4	3,92	15,68	1003,52	501,76
5	7,84	250,88	1003,52	250,88
6	15,68	250,88	1003,52	250,88
$\bar{x}$	8,49	170,52	753,94	313,6
SD	5,26	120,6	380,6	140,2

IgA (Abb. 14)

1	1,84	3,68	3,68	58,88
2	0,92	29,44	29,44	14,72
3	0,92	3,68	235,52	117,76
4	1,84	29,44	58,88	29,44
5	3,68	58,88	117,76	117,76
6	1,84	29,44	58,88	29,44
$\bar{x}$	1,84	25,76	84,0	61,33
SD	0,92	18,7	76,1	40

IgG-, IgM-, IgA-Anti-HSA-Titer (Elisaeinheiten/ml)
 von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
 und Verabreichung von 0,1 ml Alkohol

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 11)

1	8,4	33,6	268,8	268,8
2	4,2	8,4	537,6	537,6
3	4,2	16,8	268,8	268,8
4	1,05	16,8	4300,8	4300,8
5	1,05	537,7	4300,8	2150,4
6	1,05	2,1	134,4	1075,2
$\bar{x}$	3,55	102,5	1635,2	1433,6
SD	2,6	196,6	7136,0	4199,0

IgM (Abb. 13)

1	3,92	31,36	501,76	250,88
2	3,92	7,84	250,88	501,76
3	3,92	7,84	125,4	31,36
4	3,92	15,68	250,8	62,7
5	15,68	15,68	15,68	15,68
$\bar{x}$	6,27	15,6	228,9	172,4
SD	4,7	8,5	162,8	186,4

IgA (Abb. 15)

1	0,46	1,84	14,72	7,36
2	3,68	117,76	58,88	14,72
3	3,68	3,68	29,44	58,88
4	3,68	7,36	117,76	29,44
5	3,68	14,72	58,88	29,44
6	0,46	0,92	7,36	14,72
$\bar{x}$	2,6	24,38	47,8	25,76
SD	1,5	42,0	36,9	16,8

IgG-, IgM-, IgA-Anti-HSA-Titer (Elisaeinheiten/ml)
 von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
 und Verabreichung von 0,4 ml Influenza in wässriger
 Lösung

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 19)

1	1,05	33,6	537,6	1075,2
2	1,05	33,6	1075,2	2150,4
3	2,1	134,4	4300,8	17203,2
4	1,05	8,4	1075,2	2150,4
5	4,2	67,2	4300,8	4300,8
6	8,4	268,8	2150,4	2150,4
$\bar{x}$	2,97	91	2240	4838,4
SD	2,67	88,9	1533	5612

IgM (Abb. 20)

1	7,84	250,88	1003,52	250,88
2	15,68	1003,52	1003,52	501,76
3	3,92	1003,52	1003,52	501,76
4	0,98	3,92	250,88	125,44
5	15,68	62,72	501,76	501,76
6	7,84	501,76	501,76	125,44
$\bar{x}$	8,65	471	710,8	334,5
SD	5,49	408,5	304,4	172,4

IgA (Abb. 21)

1	1,84	29,44	117,76	58,88
2	1,84	58,88	58,88	14,72
3	0,46	29,44	58,88	14,72
4	0,92	0,92	29,44	7,36
5	1,84	7,36	29,44	14,72
6	1,84	117,76	58,88	14,72
$\bar{x}$	1,45	40,63	58,88	20,8
SD	0,5	39,19	29,4	17,2

IgG-, IgM-, IgA-Anti-HSA-Titer (Elisaeinheiten/ml)
 von Kontrollhühnern nach Immunisierung mit HSA (to)
 und Verabreichung von 0,4 ml H₂O

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung		
		Tag 5	Tag 7	Tag 9

IgG (Abb. 1g)

1	1,05	8,4	537,6	1075,2
2	0	0	16,8	134,4
3	0	16,8	33,6	1075,2
4	1,05	268,8	2150,4	1075,2
5	1,05	33,6	537,6	537,6
$\bar{x}$	0,63	65,52	655,2	779,5
SD	0,51	102,2	1360	441

IgM (Abb. 20)

1	31,36	501,76	125,44	125,44
2	15,68	501,76	501,76	250,88
3	0,98	15,68	250,8	125,44
4	0,98	0,98	15,68	31,36
$\bar{x}$	12,25	255	203,4	133,2
SD	12,5	254	182	78

IgA (Abb. 21)

1	3,68	29,44	58,88	29,44
2	7,36	29,44	235,52	58,88
3	1,84	1,84	14,72	29,44
4	3,68	29,44	29,44	7,36
$\bar{x}$	4,14	22,54	84,64	31,28
SD	2,0	11,9	88,5	18,3

IgG-, IgM-, IgA- Konzentrationen (mg/ml) im Serum
dysgammaglobulinämischer Hühner nach Immunisierung mit
HSA (to) und Verabreichung von 0,4 ml Influenza in
alkoholischer Lösung

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung			
		Tag 5	Tag 7	Tag 9	Tag 14

IgG (Abb. 22)

1	0,016	0,126	0,832	0,88	0,816
2	0,048	0,08	0,4	0,77	0,512
3	0,079	0,079	0,084	0,115	0,108

IgM

1	10,3	9,6	10	10,1	9,6
2	9,57	10,1	7,95	10,05	9,57
3	9,77	7,45	6,08	8,41	7,24

IgA

1	0,13	0,134	0,17	0,17	0,134
2	0,83	0,92	0,76	0,93	0,88
3	0,65	0,63	0,6	0,62	0,62

IgG-, IgM-, IgA- Konzentrationen (mg/ml) im Serum
dysgammaglobulinämischer Hühner nach Immunisierung mit
HSA (to) und Verabreichung von 0,1 ml Influenza in
alkoholischer Lösung

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung			
		Tag 5	Tag 7	Tag 9	Tag 14

IgG (Abb. 24)

1	0	0	0	0	0
2	0,36	0,288	0,363	0,491	0,544
3	0	0	0	0	0

IgM

1	5,4	7,79	7,93	9,49	4,72
2	8,13	8,13	7,26	9,43	10,47
3	8,56	11,7	11,7	11,7	9,86

IgA

1	0,48	0,51	0,52	0,54	0,38
2	0,69	0,63	0,47	0,69	0,82
3	1,06	1,06	1,09	1,12	1,09

IgG-, IgM-, IgA-Konzentrationen (mg/ml) im Serum
dysgammaglobulinämischer Hühner nach Immunisierung mit
HISA (to) und Verabreichung von 0,4 ml Echinacea in
alkoholischer Lösung

83

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung			
		Tag 5	Tag 7	Tag 9	Tag 14

IgG (Abb. 23)

1	0	0	0	0	0
2	0,216	0,224	0,288	0,488	0,792
3	0	0,014	0,04	0,056	0,043

IgM

1	21,268	21,92	21,17	16,95	16,39
2	2,25	1,77	1,84	2,12	1,77
3	5,73	7,91	6,82	7,91	6,46

IgA

1	0	0	0	0	0
2	0,37	0,49	0,43	0,4	0,45
3	0,25	0,27	0,32	0,35	0,3

IgG-, IgM-, IgA-Konzentrationen (mg/ml) im Serum
dysgammaglobulinämischer Hühner nach Immunisierung mit
HISA (to) und Verabreichung von 0,1 ml Echinacea in
alkoholischer Lösung

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung			
		Tag 5	Tag 7	Tag 9	Tag 14

IgG (Abb. 25)

1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0,0744	0,084	0,108	0,196	-

IgM

1	18,176	16,64	15,74	14,97	13,82
2	15,08	14,14	13,20	16,01	12,26
3	1,31	0,94	1,6	2,12	-

IgA

1	0,32	0,27	0,32	0,26	0,19
2	1,18	1,13	1,15	1,06	1,13
3	0,345	0,501	0,407	0,317	-

IgG-, IgM-, IgA- Konzentrationen (mg/ml) im Serum
dysgammaglobulinämischer Hühner nach Immunisierung mit
HSA (to) und Verabreichung von 0,4 ml Alkohol

84

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung			
		Tag 5	Tag 7	Tag 9	Tag 14

IgG (Abb. 22/23)

4	0,02	0,04	0,084	0,125	0,14
5	0	0,00925	0,018	0,013	0,008207

IgM

4	12,54	11,26	11,136	8,96	8,96
5	18,67	16,77	17,02	14,34	16,51

IgA

4	1,37	1,31	1,12	1,16	1,39
5	1,74	1,86	1,66	1,43	1,15

IgG-, IgM-, IgA- Konzentrationen (mg/ml) im Serum
dysgammaglobulinämischer Hühner nach Immunisierung mit
HSA (to) und Verabreichung von 0,1 ml Alkohol

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung			
		Tag 5	Tag 7	Tag 9	Tag 14

IgG (Abb. 24/25)

4	0,016	0,0832	0,1	0,108	0,1
5	0,15	0,128	0,343	4,29	3,33

IgM

4	14,98	15,1	21,63	19,33	17,3
5	10,0	6,82	5,63	4,04	5,23

IgA

4	0,96	0,1	0,11	1,22	1,22
5	0,42	0,3	0,22	0,217	0,24

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung			Tag 14
		Tag 5	Tag 7	Tag 9	

IgG (Abb. 22/23)

1	0	0	0	0	0
2	0,018	0,0168	0,03	0,03	0,28

IgM

1	3,83	3,68	3,22	4,75	-
2	2,304	1,36	0,845	0,512	1,79

IgA

1	0,216	0,216	0,224	0,256	-
2	1,04	0,888	0,888	0,8	0,987

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung			
		Tag 5	Tag 7	Tag 9	Tag 14

IgG (Abb. 26)

1	0	2,1	8,4	4,2	4,2
2	0	8,4	268,8	1075,2	268,8
3	0	16,8	1085,2	2150,4	1075,2

IgM (Abb. 30)

1	125,44	250,88	4014,08	4014,08	1003,52
2	31,36	125,44	8028,16	16056,32	4014,08
3	31,36	31,36	2007,04	8028,16	8028,16

IgA (Abb. 34)

1	7,36	7,36	471,04	942,08	235,52
2	1,84	7,36	1884,16	1884,16	471,04
3	3,68	3,68	1884,16	3768,32	1884,16

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung			
		Tag 5	Tag 7	Tag 9	Tag 14

IgG (Abb. 28)

1	0	0	4,2	4,2	1,05
2	0	0	0	2,1	4,2
3	0	4,2	268,8	537,6	537,6

IgM (Abb. 32)

1	15,68	62,72	16056,32	31112,64	16056,32
2	62,72	125,44	8028,16	16056,32	4014,08
3	250,88	250,88	501,76	2007,04	2007,04

IgA (Abb. 36)

1	1,84	3,68	1884,16	3768,32	942,08
2	1,84	7,36	942,08	1884,16	1884,16
3	7,36	29,44	58,88	471,04	471,04

IgG-, IgM-, IgA-Anti-HSA-Titer (Elisaeinheiten/ml)
 dysgammaglobulinämischer Hühner nach Immunisierung mit
 HSA (to) und Verabreichung von 0,4 ml Echinacea in
 alkoholischer Lösung

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung			
		Tag 5	Tag 7	Tag 9	Tag 14

IgG (Abb. 27)

1	0	1,05	2,1	2,1	1,05
2	0	2,1	8,4	134,4	134,4
3	1,05	4,2	4,2	4,2	4,2

IgM (Abb. 31)

1	501,76	4014,08	8028,16	8028,16	8028,16
2	31,36	31,36	62,72	250,88	250,88
3	250,88	1003,52	501,76	501,76	501,76

IgA (Abb. 35)

1	58,88	471,04	942,08	1884,16	942,08
2	7,36	14,72	29,44	117,76	117,76
3	14,72	117,76	117,76	117,76	117,76

IgG-, IgM-, IgA-Anti-HSA-Titer (Elisaeinheiten/ml)
 dysgammaglobulinämischer Hühner nach Immunisierung mit
 HSA (to) und Verabreichung von 0,1 ml Echinacea in
 alkoholischer Lösung

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung			
		Tag 5	Tag 7	Tag 9	Tag 14

IgG (Abb. 29)

1	0	1,05	2,1	2,1	1,05
2	0	0	0	0	0
3	0	0	4,2	16,8	-

IgM (Abb. 33)

1	250,88	1003,52	4014,08	4014,08	1003,52
2	2007,04	1003,52	501,76	1003,52	1003,52
3	15,68	15,68	1003,52	16056,32	-

IgA (Abb. 37)

1	14,72	58,88	942,08	942,08	235,52
2	14,72	7,36	14,72	14,72	58,88
3	0,92	1,84	235,52	1884,16	-

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung			
		Tag 5	Tag 7	Tag 9	Tag 14

IgG (Abb. 26/27)

4	0	4,2	4,2	2,1	1,05
5	8,4	8,4	16,8	67,2	33,6

IgM (Abb. 30/31)

4	501,76	2007,04	4014,08	4014,08	4014,08
---	--------	---------	---------	---------	---------

IgA (Abb. 34/35)

4	0,92	14,72	117,6	117,6	117,6
---	------	-------	-------	-------	-------

IgG-, IgM-, IgA-Anti-HSA-Titer (Elisaeinheiten/ml)
dysgammaglobulinämischer Hühner nach Immunisierung mit
HSA (to) und Verabreichung von 0,1 ml Alkohol

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung			
		Tag 5	Tag 7	Tag 9	Tag 14

IgG (Abb. 28/29)

4	1,05	4,2	8,4	16,8	8,4
---	------	-----	-----	------	-----

IgM (Abb. 32/33)

4	15,68	250,88	4014,08	4014,08	501,76
---	-------	--------	---------	---------	--------

IgA (Abb. 36/37)

4	0,92	14,72	117,6	117,6	117,6
---	------	-------	-------	-------	-------

IgG-, IgM-, IgA-Anti-HSA-Titer (Elisaeinheiten/ml)
 dysgammaglobulinämischer Hühner nach Immunisierung mit
 HSA (to) und Verabreichung von Wasser

Tier Nr.	Tag der Behandlung	Tage nach der Behandlung			
		Tag 5	Tag 7	Tag 9	Tag 14

IgG (in Abb. nicht dargestellt)

5	0	2,1	4,2	4,2	-
6	0	0	1,05	2,1	2,1

IgM (Abb. 30/31, 32/33)

5	31,36	1003,52	8028,16	8028,16	-
6	15,68	15,68	31,36	4014,08	8028,16

IgA (Abb. 34/35, 36/37)

5	1,84	58,88	942,08	1884,16	-
6	3,68	1,84	3,68	942,08	1884,16

9. LITERATURVERZEICHNIS

- Altmann, B.
Die Beeinflussung gestörter und unreifer Immunsysteme durch bakterielles Lipopolysaccharid am Beispiel des Haushuhns
Vet.Med.Diss., Universität München (1984)
- Arthus (1920)
Aus: Internat. Encyclop. of Pharmacol. a. Therap.
Sect. 71 Vol. II
Pharmacol. a. Toxicol. of Nature - Occur. Toxins
Pergamon Press L.o.C.C.C. N.77 130797
p. 117, 122 (1971)
- Benedict, A.A.
Production and purification of chicken immunoglobulins
Aus: Meth. in Immunol. and Immunochem.
ed. by L.A. Williams, and M.W. Chase; Academic Press
New York-London, Vol. I, 130-140
- Benedict, A.A. and Yamaga, K.
Academic Press New York-London,
In: Comparative Immunology Vol. I, 130 - 140 (1967)
J.J. Marchalonis, ed., Wiley, New York, pp. 335-375 (1976)
- Bienenstock, J., Perey, D.Y.E., Gauldie, J. and Underdown, B.J.
Chicken γ A : Physicochemical and immunochemical characteristics
J Immunol. 110, 524 - 533 (1973)
- Bohlmann, F. und Grenz, M.
Über die Inhaltsstoffe aus Echinaceaarten
Chem.Ber. 99, 3197-3200 (1966)
- Böhringer, D., Ziegler, J., Tiemeyer, W., Lösch, U. and Merckenschlager, M.
Purines and Pteridines in lymphocytes from control and immune deficient UM-B19-chickens
European Congr. of Anim. Clin. Biochem., Jerusalem (Sept. 1985)
- Braun, H.
Arzneipflanzen-Lexikon
Gustav-Fischer Verlag Stuttgart-New York (1979)
- Brüggemann, J., Merckenschlager, M., Kirchner, B. und Lösch, U.
Eine erbliche Hypo- bzw. Dysgammaglobulinämie beim Haushuhn
Naturwissenschaften 54, 97 - 98 (1967)
- Brüggemann, J., Friedrich, U. und Lösch, U.
Vergleichende Bestimmungen der Immunglobulinspiegel genuin dysgammaglobulinämischer und "hormonell burssektomierter" Hühner
2. Tierphysiol., Tierernährung und Futtermittelkunde 24, 317 - 330 (1969)

- Brüggemann, J., Friedrich, B., Lösch, U. und Schmidt, D.O.
Zur Antikörperproduktion dysgammaglobulinämischer Hühner
I. Isohämagglutinine
Z. Immunitätsforschung 141, 280 - 289 (1971)
- Burns, R.B. and Maxwell, M.
Aus: Freemann, B.M.
Physiology and Biochemistry of the domestic fowl 5
pp. 296 (1984)
- Büsing, K.H.
Hyaluronidasehemmung durch Echinacin
Arzneimittel-Forschung 2, 467-469 (1952)
- Chen, C.L.H., Lehmyer, J.E. and Cooper, M.D.
Evidence for an IgD homologue on chicken lymphocytes
J. Immunology 129, 2580-2585 (1982)
- Choné, B. und Manidakis, G.
Echinacin-Test zur Leukozytenprovokation bei effektiver Strahlentherapie
Deutsche Medizinische Wochenschrift Nr.27 S. 1406-1410 (1969)
- Chrubasik, S. und Chrubasik, J.
Kompendium der Phytotherapie
Hippokrates Verlag Stuttgart
ISBN 3-7773-0618-5, S. 122 (1983)
- Cooper, M.D., Peterson, L.N., Dent, R.D.A., South, M.A. and Good, R.A.
The function of the thymussystem and the bursa system in the chicken
J. Exp. Med. 123, 75 - 95 (1966)
- Dorn, W.
Quantitative Untersuchungen der polymeren und monomeren Anteile von IgM und IgA beim Haushuhn
Vet.Med.Diss., Universität München (1984)
- Efrati and Reif (1953)
Aus: Internat. Encyclop. of Pharmacol. a. Therap. Sect. 71, Vol.II
Pharmacol. a. Toxicol. of Natur.-Occur. Toxins
Pergamon Press L.o.C.C.C.N. 77.130797, p. 117-122 (1971)
- Eilmers, H.G.
Antivirale Wirkung von Pflanzeninhaltsstoffen am Beispiel von Echinacea angustifolia und Flavoniden
Dissertation, Universität Frankfurt (1976)
- Engvall, E. and P. Perlmann,
Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA. III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes.
J. Immunol. 109, 129-125 (1972)

- Feldberg and Kellaway (1937)
Aus: Internat. Encyclop. of Pharmacol. a. Therap. Sect. 71,
Vol. II
Pharmacol. a. Toxicol. of Natur.-Occur. Toxins
Pergamon Press L.o.C.C.C.N. 77.130797, 117-122 (1971)
- Fiedler, H., Lösch, U., Herlyn, D. und Hoffmann-Fezer, G.
Die Auswirkungen neonataler Cyclophosphamidverabreichung
(Cy), chirurgischer Bursektomie (Bx) und kombinierter Behand-
lung (Cy + Bx) auf die immunologische Leistungsfähigkeit von
Küken in verschiedenen Altersstufen
Zbl. Vet. Med. B 24, 609-622 (1977)
- Fiedler, H., Lösch, U. and Hála, K.
Establishment of a B-compatible chicken line with normogamma-
globulinaemia and dysgammaglobulinaemia (IgM/IgG)
Folia biologica (Praha) 26, 17-25 (1980)
- Fiedler, H., Scheu, M., Kühlmann-Rabens, J. and Lösch, U.
Kinetics of delayed-type hypersensitivity (DTH) reactions and
Ig-levels in FCA-injected dysgammaglobulinemic B12 chickens
Immunobiol. 158, 293-302 (1981)
- Funke, H.
Neue Erkenntnisse über Echinacea
Zeitschrift für Phytotherapie 5, 650-656 (1983)
- Fürstenberg, H.S.
Blasenkarzinom und Zytostatika-unspezifischer Reiz und kör-
pereigene Abwehrkräfte
Schweizerische Rundschau für Medizin 52, 1744-1746 (1956)
- Gerbes, A.L., Schick, P. und Messerschmidt, O.
Untersuchungen über die Wirkung von Pflanzenextrakten (Echi-
nacea Complex)
bei akuter Strahlenkrankheit von Mäusen
Zeitschrift für Phytotherapie 5, 646-649 (1983)
- Gerhardt, P.
Über den Einfluss einer unspezifischen Reiztherapie mit Esberi-
tox auf die Leukopoese bei der Anwendung ionisierender
Strahlen
Zeitschrift für Strahlentherapie 143, 549-558 (1972)
- Gill, T.J.
Methods for detecting antibody
Immunochemistry 7, 997-1000 (1970)
- Glück, B., Chang, T.S. and Jaap, R.G.
The bursa of Fabricius and antibody production
Poultry Science 35, 224-225 (1956)

- Glick, B. and Sadler, C.R.
The elimination of the bursa of Fabricius and reduction of antibody production in birds from eggs dipped in hormone solutions
Poultry Science 40, 185-189 (1961)
- von Graevenitz, A. und Husmann, K.H.
Beeinflussung der Serumproperdinaktivität durch unspezifische Reiztherapeutika im Tierexperiment
Arzneimittelforschung 3, 184-185 (1960)
- Mc Gregor, R.L.
The taxonomy of the genus *Echinacea* (Compositae)
The University of Kansas Science Bulletin 48, 113-142 (1968)
- Habermann, E.
Ergebnisse der Physiologie, Biologische Chemie und Experimentellen Pharmakologie
Springer Berlin-Heidelberg-New York (1968)
- Haedge, D. and Ambrosius, H.
Evolutions of low molecular weight immunoglobulins.
III. The immunoglobulin of chicken bile-not an IgA
Mol. Immunol. 20, 597-606 (1983)
- Hänsel, R.
Anti-infektiöse Prophylaxe durch Immunstimulantien - unter besonderer Berücksichtigung der Phytopharmaka
Zeitschrift für angewandte Phytotherapie 6, 172-180 (1981)
- Hänsel, R.
Unspezifische Reizkörpertherapie - Das Arzneimittelangebot aus pharmazeutischer Sicht
Zeitschrift für Phytotherapie 6, 1-7 (1985)
- Hanneschläger, L.
Untersuchungen über die Fertilität dysgammaglobulinämischer Hähne der UM-B19-Linie
Vet.Med.Diss., Universität München (1984)
- Harnischfeger, G. und Stolze, H.
Bewährte Wirksubstanzen aus Naturstoffen: Sonnenhut
Notabene medici 11, 484-491 (1980)
- Heeger, E.F.
Handbuch des Arznei- und Gewürzpflanzenbaues, Drogengewinnung
Deutscher Bauernverlag Berlin, 388-393 (1956)
- Heyl, F.W. and Staley, J.F.
Analysis of 2 *echinacea* roots
Am. J. Pharmacy 86, 450-455 (1914)

- Heyl, F.W. and Hart, M.C.
Constituents of the root of *Brauneria angustifolia*
J. Am. Chem. Soc. 37, 1769-1778 (1915)
- Hilschmann, N.
Aus: Die Immunität - eine vorprogrammierte Reaktion auf das Unerwartete
Mannheimer Forum, 101-161 (1982/83)
- Hirota, Y. and Bito, Y.
Diverse effects of bursectomy on humoral immune responses in the chicken
Poultry Science 54, 1524-1537 (1975)
- Hobbs, J.R.
Immune imbalance in dysgammaglobulinemia Typ IV.
The Lancet I, 110-114 (1968)
- Humphrey, J.H. and White, R.G.
Immunology for Students of Medicine
Blackwell, Oxford pp. 201 (1964)
- Ishizaka, K., Ishizaka, T., Lee, E.H. and Fudenberg, H.
Immunochemical properties of human μ A isohemagglutinin
I. Comparisons with μ G- and μ M-globulin antibodies
J. Immunol. 95, 197-208 (1965 a)
- Jacobsen, M.
Occurence of a pungent insecticidal principle in American cornflowers roots
Science 120, 1028-1029 (1954)
- Jacobsen, M., Redfern, R.E. and Mills jr., G.D.
Naturally occurring insect Growth regulators
3. Echinolone, a highly active juvenile hormone mimic from *Echinacea angustifolia* roots
LLoydia 38, 473-476 (1975)
- Janković, B.D.
The development and function of immunologically reactive tissue in the chicken
Wiss.Ztschrf.d. Friedrich-Schiller-Univ. Jena 17, 137-148 (1968)
- Kleinschmidt, H.
Versuche zur Herabsetzung der Infektneigung bei Kleinkindern mit Esberitox
Therapie der Gegenwart, 1258-1262 (1965)
- Klobusitzky and König (1936)
Aus: Internat. Encyclop. of Pharmacol. a. Therap. Sect. 71, Vol. II
Pharmacol. a. Toxicol. of Natur.-Occur. Toxins
Pergamon Press L.o.C.C.C.N. 77.130797, 117-122 (1971)

- Kobayashi, K. and Hirai, H.
Studies on subunit components of chicken polymeric immunoglobulins
J. Immunol. 124, 1695-1703 (1980)
- Koch, E.F. und Haase, H.
Eine Modifikation des Spreading-Tests im Tierversuch, gleichzeitig ein Beitrag zum Wirkungsmechanismus von Echinacin
Arzneimittel-Forschung 2, 464-467 (1952)
- Koch, E.F. und Übel, H.
Experimentelle Untersuchungen über die lokale Beeinflussung der Geweberesistenz gegen Streptokokkeninfektion durch Cortison und Echinacin
Arzneimittel-Forschung 4, 551-560 (1964)
- Kühlmann-Rabens, J., Wanke, R., Storandt, F., Altmann, B., Lösch, U. and Merckenschlager, M.
Attempts on defect localisation in UM-B19-chickens by means of immunomodulating operations
Vet. Immunol. Path. (1985), in Vorbereitung
- Laurell, C.B.
Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies
Anal. Biochem. 15, 45-52 (1966)
- Lebacqz-Verheyden, A.M., Vaerman, J.P. and Heremans, J.F.
A possible homologue of mammalian IgA in chicken serum and secretions
Immunol. 22, 165-175 (1972)
- Leslie, G.A. and Clem, L.W.
Phylogeny of immunoglobulin structure and function
III. The immunoglobulins of the chicken
J. Exp. Med. 130, 1337-1352 (1969)
- Leslie, G.A. and Martin, L.N.
Studies on the secretory immunologic system of fowl
III. Serum and secretory IgA of the chicken
J. Immunol. 110, 1-9 (1973)
- Linna, T.J., Frommel, D. and Good, R.A.
Effects of early cyclophosphamid treatment on the lymphoid system of the chicken
XIII. Int. Congr. Hematology München
Abstract volume Nr.362 (August 1970)
- Lloyd, J.U.
Echinacea angustifolia
Lloyd Brothers Publ., Cincinnati (1923)

- Lösch, U., Hartmann, W. und Riedel, G.
Zur Antikörperproduktion dysgammaglobulinämischer Hühner
II. Präzipitine
Z. Immun.Forsch. 143, 16-30 (1972)
- Lösch, U. und Hoffmann-Fezer, G.
Vergleichende histologische und immunologische Untersuchungen an immunologisch defekten Hühnern
II. Erblieh dysgammaglobulinämische Hühner
Zbl. Vet. Med. A 20, 596-605 (1973)
- Lösch, U., Kühlmann, I., Klumpner, W. and Fiedler, H.
Course of serum-Ig concentrations in B12 chickens of the UM-line
Immunbiol. 158, 416-425 (1981)
- Lydyard, P.M., Grossi, C.E. and Cooper, M.D.
Ontogeny of B-cells in the chicken
I. Sequential development of clonal diversity in the bursa
J. Exp. Med. 144, 79-97 (1976)
- May, G. und Willuhn, G.
Antivirale Wirkung wässriger Pflanzenextrakte in Gewebekulturen
Arzneimittel-Forschung 28, 1-7 (1978)
- Merckenschlager, M., Riedel, G., Kirchner, B. und Lösch, U.
Die Immunglobuline bursektomierter Küken in der Immunelektrophorese (IE)
Die Naturwissenschaften 53, 408-409 (1966)
- Meyer, R.K., Rao, M.A. and Aspinall, R.L.
Inhibition of the development of the bursa of Fabricius in the embryos of the common fowl by 19-Nortestosterone
Endocrinology 64, 890-897 (1959)
- Müller, A.P., Wolfe, H.R. and Meyer, R.K.
Precipitin production in chickens
XXI. Antibody production in bursectomized chickens and in chickens injected with Nortestosterone on the fifth day of incubation
J. Immunol. 85, 172 ff (1960)
- Neumann (1953)
Aus: Internat. Encyclop. of. Pharmacol. a. Therap. Sect. 71, Vol. II
Pharmacol. a. Toxicol. of Natur.-Occur. Toxins
Pergamon Press L.o.C.C.C.N. 77.130797, 117-122 (1971)

- Oberdorfer, A. und Lösch, U.
Das sedimentationsanalytische Serumeiweißbild dysgammaglobulinämischer Hühner (*Gallus domesticus*)
Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 351, 1007-1010 (1970)
- Okpanyi, S.N.
Fa. Steigerwald, persönliche Mitteilung (1983)
- Orinta, D., Diedrich, J. und Wacker, A.
Antivirale Aktivität von Inhaltsstoffen der Composite *Echinacea Purpurea*
Arzneimittel-Forschung 23, 1119-1120 (1973)
- Orlans, E. and Rose, M.E.
An IgA-like immunoglobulin in the fowl
Imm. chem. 9, 833-838 (1972)
- Orczechowski, G.
Pflanzliche Polysaccharide zur Steigerung der körpereigenen Abwehr
Medizinische Welt Nr.6, 293-300 (1963)
- Osswald, A. und Werk, W.
Immunstimulation durch Adaptogene
Naturheilpraxis 3, 724-729 (1984)
- Parés, R., Jofre, J. and yLoren J.
Efecto de Broncho-Vaxom sobre inmunoglobulinas de secreción
Lab. OM, experimental report (1974)
- Parés, R., Jofre, J. and y Fuste, C.
Estudios complementarios sobre la respuesta inmunitaria en el ratón subsecuente a la administración de Broncho-Vaxom
Lab. OM, experimental report (1975)
- Proksch, A.
Über ein immunstimulierendes Wirkprinzip aus *Echinacea purpurea* (L) MOENCH
Dissertation, Universität München (1982)
- Prügner, W.
Untersuchungen zu Con A bzw. PWM induzierten Stimulierbarkeit der Lymphozyten von UM-B19-Hühnern
Dissertation, München (1982)
- Puigdollers, J.M., Rodés Serna, G., Hernandez des Rey, J., Tillo Baruffet, M.T. und Jofre Torroella, J.
Stimulierung der Immunglobulinproduktion beim Menschen durch ein oral verabreichtes Bakterienlysat
Respiration 40, 142-149 (1980)
- Ritschel, W.A.
Angewandte Biopharmazie
Wissenschaftl. Verlagsges. MBH Stuttgart (1973)

- Roitt, J.
Immunologie
Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt (1977)
- Roth, Daunderer und Kormann
Giftpflanzen - Pflanzengifte
ISBN 3-609-64810-4, 5-6 (1984)
- Sachs, L.
Angewandte Statistik
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1978)
- Schäfer, B.
Studien zur zellvermittelten Immunität immunologisch defekter
Hühner
Dissertation, Universität München (1972)
- Schranner, I., Lösch, U. und Merckenschlager, M.
Das Serumproteinmuster des Haushuhns
Vergleichende Darstellung der Serumproteine normaler und
defekter Hühner
Zbl. Vet.Med. A. 29, 327-336 (1982)
- Schranner, I. and Lösch, U.
Immunological identification of avian monomeric and polymeric
IgM and IgA after fractionation on SDS pore gradient poly-
acrylamid gels
Poultry Science (1986), in press
- Schulte, K.E., Rücker, G. und Perlick, J.
Das Vorkommen von Polyacetylen-Verbindungen in Echinacea
purpurea und Echinacea angustifolia D.C.
Arzneimittel-Forschung 17, 825-829 (1967)
- Schütterle, E.P.
Über die körpereigene Infektabwehr und die Wirkung einer
unspezifischen Reizkörpertherapie
Therapiewoche 20, 1-11 (1970)
- Schwarz, P.
Arzneimittelstudie: Die Echinacea
Naturheilpraxis 9 (1984)
- Seeger, P.G.
Die Steigerung der körpereigenen Abwehrkraft gegen Infektio-
nen und Entzündungen durch prophylaktische und therapeu-
tische Behandlung mit Echthrosept
EHK 6, 444-448 (1981)

- Sell, F.
Immunologie, Immunpathologie und Immunität
Verlag Chemie, Weinheim-New York (1977)
- Stoll, A., Renz, J. und Brack, A.
Isolierung und Konstitution des Echinacosids, eines Glycosids
aus den Wurzeln von *Echinacea angustifolia* D.C.
Helvet. Chem. Acta 33, 1877-1893 (1950)
- Storandt, F.
Die Beeinflussung des Isotypmusters immundefekter Hühner
durch Levamisol
Dissertation, Universität München (1983)
- Subba Rao, D.S.V., Mc Duffie, F.C. and Glick, B.
The regulation of IgM production in the chick: roles of the
bursa of Fabricius, environmental antigens, and plasma IgG
J. Immunol. 120, 783 ff (1978)
- Tam, L. Q. and Benedict, A.A.
Elevated 7 S immunoglobulin and acute phase proteins in
adjuvant-injected chickens
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 150, 340-346 (1975)
- Toivanen, A., Toivanen, P., Eskola, J. and Lassila, O.
Ontogeny of the lymphoid system
In: Avian Immunology
Ed: Rose, M.E., Payne, L.N., Freemann, B.M.
British poultry Science Ltd., Edinburgh (1977)
- Tympner, K.-D.
Der immunbiologische Wirkungsmechanismus von Pflanzenextrak-
ten
Zeitschrift für angewandte Phytotherapie 5, 181-184 (1981)
- Uebel, J.
Untersuchungen zur Veränderung von Struktur und Aktivität
der Immunglobuline des Huhnes nach Inkubation des Serums
mit 2-Mercaptoäthanol
Dissertation, Universität München (1984)
- Uhr, J.W.
The heterogeneity of the immune response
Science, 145-457 (1964)
- Verelis
Untersuchung der lipophilen Inhaltsstoffe von *Radix*
Echinacea angustifolia D.C.
Dissertation, Universität Heidelberg (1978)
- Viehmann, P.
Erfahrungsheilkunde Bd.27/H 6, 353-358 (1978)

- Voaden, D.J. and Jacobsen, M.
Tumor inhibitors
3. Identification and synthesis of an oncolytic hydrocarbon
from American cornflowers roots
J. Med. Chem. 15, 619-623 (1972)
- Vonarburg, B.
Sonnenhut steigert Abwehrkräfte
Allgemeine Homöopathische Zeitung, 204-205 (1984)
- Wacker, A. und Hilbig, G.
Virushemmung mit Echinacea purpurea
Planta Medica 33, 89-102 (1978)
- Wagner, H.
Arzneimittelpflanzen zur Steigerung der körpereigenen Immun-
abwehr
Naturheilpraxis 3, 256-262 (1983)
- Weiss, R.F.
Lehrbuch der Phytotherapie
Hippokrates Verlag Stuttgart
ISBN 3-7773-0564-2, 343-344 (1982)
- Wirth, W. und Gloxhuber, Ch.
Aus: Toxikologie: für Ärzte, Naturwissenschaftler und Apo-
theker
Thieme-Verlag ISBN 3-13-421103-3, 277-278 (1981)
- Wirth, W. und Gloxhuber, Ch.
Aus: Toxikologie: für Ärzte, Naturwissenschaftler und Apo-
theker
Thieme-Verlag ISBN 3-13-421103-3, 337-338 (1981)
- Whistler, R.L., Bushway, A.A. and Singh, P.P.
Noncytotoxic, Antitumor Polysaccharides
Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 32, 235-275 (1976)

Herrn Prof. Dr. U. Lösch gilt mein Dank für die Überlassung des Themas und die stets gewährte Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. M. Merkschlager und Herrn Prof. Dr. H. Zucker danke ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Besonderen Dank sage ich Frau Dr. I. Schraner für die engagierte Anleitung und Betreuung bei dieser Arbeit und Herrn Dr. S.N. Okpanyi der Firma Steigerwald für seine freundliche Hilfeleistung.

In den Dank mit einschliessen möchte ich alle Mitarbeiter des Labors Lösch sowie Frau M. Weidt.

L E B E N S L A U F

- * geboren am 11. Februar 1956 in Bad Harzburg als zweiter Sohn des Dr. med. Herbert Würdinger und Ehefrau Irmgard geb. Klingenberg
- * Umzug nach Sanderbusch im März 1959
- * eingeschult in Sande im März 1959
- * Umzug nach Marburg an der Lahn im Oktober 1965
- * Besuch der Theodor-Heuss-Grundschule in Marburg bis März 1966
- * Wechsel auf das Gymnasium Philippinum in Marburg im Mai 1966
- * Umzug nach Esslingen am Neckar im November 1967
- * Besuch des Georgii-Gymnasiums in Esslingen bis Juli 1973
- * Wechsel auf das Institut auf dem Rosenberg in St. Gallen/Schweiz im September 1973
- * Deutsches Abitur in St. Gallen am 30. Juni 1976
- * Beginn des Studiums der Tiermedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians Universität München im November 1976
- * Unterbrechung des Studiums im April 1977 wegen Einzugs zur Bundeswehr
- * Wiederaufnahme des Studiums im Mai 1978
- * Tod meines Vaters am 22. Oktober 1979
- * 3. Staatsexamen in München am 21. Juli 1983 und Approbation am 1. Dezember 1983
- * Von Oktober 1983 bis November 1985 Anfertigung der vorliegenden Dissertation

